

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003 年 12 月 24 日 (24.12.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/106676 A1

(51) 国際特許分類⁷: C12N 15/09,
C12Q 1/68, G01N 33/53, 33/569, 37/00

(21) 国際出願番号: PCT/JP03/07620

(22) 国際出願日: 2003 年 6 月 16 日 (16.06.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2002-174564 2002 年 6 月 14 日 (14.06.2002) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社 (HITACHI SOFTWARE ENGINEERING CO., LTD.) [JP/JP]; 〒230-0045 神奈川県横浜市鶴見区末広町一丁目1番43 Kanagawa (JP). 株式会社三菱化学ビーシーエル

(MITSUBISHI KAGAKU BIO-CLINICAL LABORATORIES, INC.) [JP/JP]; 〒174-8555 東京都板橋区志村3-30-1 Tokyo (JP).

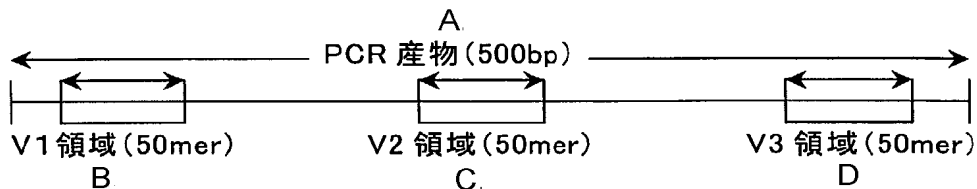
(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 橋田 順也 (HASHIDA, Junya) [JP/JP]; 〒140-0002 東京都品川区東品川4丁目12番7号日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社内 Tokyo (JP). 上野 紳吾 (UENO, Shingo) [JP/JP]; 〒140-0002 東京都品川区東品川4丁目12番7号日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社内 Tokyo (JP). 武藤 勇 (MUTO, Isamu) [JP/JP]; 〒140-0002 東京都品川区東品川4丁目12番7号日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社内 Tokyo (JP). 成瀬 貴美子 (NARUSE, Kimiko) [JP/JP]; 〒140-0002 東京都品川区東品川4丁目12番7号日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社内 Tokyo (JP). 田村 美穂 (TAMURA, Miho) [JP/JP]; 〒174-8555 東京都板橋区志村3-30-1 株式会社三菱化学ビーシーエル内 Tokyo (JP). 松田 耕

[続葉有]

(54) Title: PROBES FOR IDENTIFYING MICROORGANISM AND IDENTIFICATION METHOD USING THE SAME

(54) 発明の名称: 微生物同定用プローブ及びそれを用いた同定方法



A...PCR PRODUCT (500bp)

B...V1 REGION (50mer)

C...V2 REGION (50mer)

D...V3 REGION (50mer)

(57) Abstract: It is intended to provide specific probes for detecting and identifying a microorganism and a detection and/or identification method using the same. Probes for detecting and identifying one or more microorganisms which are harmful in the fields of medicines, foods, etc. such as *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Acinetobacter calcoaceticus* or *Haemophilus influenzae*, comprising 20 to 100 bp base sequence(s) in the V1, V2 and/or V3 regions of the 16S rRNA of the microorganism to be identified or a complementary sequence thereof. A method of detecting and/or identifying a microorganism with the use of one or more probes as described above.

(57) 要約: 微生物を検出同定する特異的プローブ及びそれを用いた検出及び／又は同定方法の提供。アクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンス、アシネトバクター・カルコアセチカス、ヘモフィルス・インフルエンザ等の医療及び食品等の分野において有害な1又は複数の微生物を検出同定するためのプローブであって、同定すべき微生物の16SrRNAのV1、V2及び／又はV3領域内の20～100bpの塩基配列又はその相補配列からなるプローブ。また、前記プローブの1種以上を用いる、微生物の検出及び／又は同定方法。



一郎 (MATSUDA,Koichiro) [JP/JP]; 〒174-8555 東京都板橋区志村3-30-1 株式会社三菱化学ビーシーエル内 Tokyo (JP). 島津 光伸 (SHIMADZU,Mitsunobu) [JP/JP]; 〒174-8555 東京都板橋区志村3-30-1 株式会社三菱化学ビーシーエル内 Tokyo (JP). 小林 寅詰 (KOBAYASHI,Intetsu) [JP/JP]; 〒174-8555 東京都板橋区志村3-30-1 株式会社三菱化学ビーシーエル内 Tokyo (JP). 石古 博昭 (ISHIKO,Hiroaki) [JP/JP]; 〒174-8555 東京都板橋区志村3-30-1 株式会社三菱化学ビーシーエル内 Tokyo (JP).

- (74) 代理人: 平木 祐輔, 外 (HIRAKI,Yusuke et al.); 〒105-0001 東京都港区虎ノ門一丁目17番1号 虎ノ門5森ビル 3階 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): CN, JP, US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明 細 書

微生物同定用プローブ及びそれを用いた同定方法

技術分野

本発明は、微生物、特に医療及び食品等の分野において有害な細菌を検出、同定する特異的なプローブ及びそれを用いた検出及び／又は同定方法に関する。

背景技術

表 1 に記載した細菌の検出は、種々の医学、公衆衛生に関して重要であり、検出方法については次の 2 つの方法が知られている。

表 1

| 微生物 ID | 微生物名 | 微生物番号 |
|-----------|---|------------|
| 01 | <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> | ATCC 29522 |
| 02 | <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> | ATCC 23055 |
| 03 | <i>Haemophilus influenzae</i> | ATCC 33391 |
| 04 | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | ATCC 13637 |
| 05 | <i>Proteus mirabilis</i> | ATCC 29906 |
| 06 | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | ATCC 33400 |
| 07 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 |
| 08 | <i>Citrobacter freundii</i> | ATCC 8090 |
| 09 | <i>Veillonella parvula</i> | ATCC 10790 |
| 10 | <i>Providencia stuartii</i> | ATCC 49809 |
| 11 | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | ATCC 49226 |
| 12 | <i>Streptococcus agalactiae</i> | ATCC 13813 |
| 13 | <i>Morganella morganii</i> | ATCC 25830 |
| 14 | <i>Bacteroides fragilis</i> | ATCC 25285 |
| 15 | <i>Staphylococcus hominis</i> | ATCC 27844 |
| 16 | <i>Staphylococcus warneri</i> | ATCC 27836 |
| 17 | <i>Staphylococcus haemolyticus</i> | ATCC 29970 |
| 18 | <i>Enterobacter cloacae</i> | ATCC 13047 |
| 19 | <i>Enterobacter aerogenes</i> | ATCC 13048 |
| 20 | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | ATCC 14990 |
| 21 | <i>Streptococcus constellatus</i> | ATCC 27823 |
| 22 | <i>Serratia marcescens</i> | ATCC 8100 |
| 23 | <i>Streptococcus anginosus</i> | ATCC 33397 |
| 24 | <i>Escherichia coli</i> | ATCC 11775 |
| 25 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | ATCC 13883 |
| 26 | <i>Enterococcus faecalis</i> | ATCC 19433 |
| 27 | <i>Enterococcus faecium</i> | ATCC 19434 |
| 28 | <i>Streptococcus sanguis</i> | ATCC 10556 |
| 29 | <i>Streptococcus mitis</i> | ATCC 49456 |
| 30 | <i>Streptococcus intermedius</i> | ATCC 27335 |
| 31 | <i>Listeria monocytogenes</i> | ATCC 15313 |
| 32 | <i>Clostridium perfringens</i> | ATCC 13124 |
| 33 | <i>Corynebacterium aquatium</i> | IFO 15710 |
| 34 | <i>Streptococcus oralis</i> | ATCC 35037 |
| 35 | <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 12600 |
| 36 | <i>Neisseria meningitidis</i> | IID 854 |
| 37 | <i>Campylobacter fetus</i> | ATCC 27374 |
| 38 | <i>Enterococcus gallinarum</i> | ATCC 49573 |
| 39 | <i>Enterococcus casseliflavus</i> | ATCC 25788 |
| 40 | <i>Aeromonas hydrophila</i> | ATCC 7966 |
| 41 | <i>Salmonella paratyphi A</i> | ATCC 9281 |
| 42 | <i>Salmonella typhi</i> | ATCC 19430 |
| 43 | <i>Streptococcus equisimilis</i> | ATCC 35666 |
| 44 | <i>Streptococcus canis</i> | ATCC 43496 |
| 45 | <i>Klebsiella oxytoca</i> | ATCC 13182 |
| 46 | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | ATCC 15305 |
| 47 | <i>Pasteurella multocida</i> | ATCC 43137 |
| 48 | <i>Eikenella corrodens</i> | ATCC 23834 |
| 49 | <i>Streptococcus pyogenes</i> | ATCC 12344 |
| 50 | <i>Moraxella catarrhalis</i> | ATCC 25238 |

| | | |
|----|-------------------------------------|------------|
| 51 | <i>Legionella pneumophila</i> | ATCC 33152 |
| 52 | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | ATCC 27294 |
| 53 | <i>Mycobacterium avium</i> | ATCC 25291 |
| 54 | <i>Mycobacterium intracellulare</i> | ATCC 13950 |
| 55 | <i>Mycobacterium kansasii</i> | ATCC 12478 |
| 56 | <i>Mycobacterium gordonae</i> | ATCC 14470 |

第1の方法としては、検体材料の患者糞便・血液及び食品等から、基本的には血液寒天培地、マッコンキー培地（便の場合、SS 寒天培地等）、各種確認培地、診断用免疫血清を用いて微生物の同定を行う方法がある。しかしながらこの方法は、同定に時間がかかってしまうという問題がある。

第2の方法としては、迅速に検査を行うことができる PCR（ポリメラーゼ連鎖反応）法と呼ばれる方法が開発され実用化されている。この PCR 法では細菌を同定するプローブとして 16S rRNA または 23S rRNA の塩基配列を使用することが知られている。このようなりボソームの塩基配列を使用した細菌同定用プローブ及び同定方法は、例えば特許第 3116353 号、特許第 3135909 号、特許第 3030034 号、特願 2002-17356 号、特開 2002-34578 号などに開示されている。

しかしながら、これらの出願には、16S rRNA 分子の 5' 末端に由来の 400～500 塩基の領域が系統学的に保存された属の近縁の種間を識別するために有効な領域であり、それらの領域の一部の塩基配列を有するプローブを調製してある特定の微生物を検出、同定することは報告されてはいるが、16S rRNA の塩基配列のうち、微生物間の保存性が低く、特定の種に対して特異性が高い V1、V2 及び V3 領域は個々に特定されておらず、その領域の塩基配列からプローブを調製し、本願発明の表 1 に示す微生物を効率よく特異的に検出、同定する方法については全く報告されていない。

発明の開示

従って、本発明は、医療及び食品等の分野において有害な微生物を、16S rRNA の特定の種に対して特異性が高い V1、V2 及び V3 領域の塩基配列に基づいて、迅速かつ確実に微生物を検出及び／又は同定するプローブ及びそのプローブを用いた検出及び／又は同定方法を提供することを目的とする。

本発明者らは、上記課題を解決するため、鋭意研究を行った結果、16S rRNA 塩基配列のうち、特に種に対して特異性が高い特定の V1、V2 及び V3 領域の塩基配列に着目し、医療及び食品等の分野において有害な細菌を特異的に検出及び／又は同定し得るプローブを見出し、本発明を完成させるに至った。

すなわち、本発明は、以下の 1～66 を提供する。

(1) アクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンス (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)、アシネトバクター・カルコアセチカス (*Acinetobacter calcoaceticus*)、ヘモフィルス・インフルエンザ (*Haemophilus influenzae*)、ステノトロフォモナス・マルトフィリア (*Stenotrophomonas maltophilia*)、プロテウス・ミラビリス (*Proteus mirabilis*)、ストレプトコッカス・ニューモニエ (*Streptococcus pneumoniae*)、シュードモナス・エルギノサ (*Pseudomonas aeruginosa*)、シトロバクター・フレンディ (*Citrobacter freundii*)、ベイヨネラ・パルブーラ (*Veillonella parvula*)、プロビデンシア・スチュアーティ (*Providencia stuartii*)、ナイセリア・ゴノローエ (*Neisseria gonorrhoeae*)、ストレプトコッカス・アガラクチエ (*Streptococcus agalactiae*)、モルガネラ・モルガニ (*Morganella morganii*)、バクテロイデス・フラジリス (*Bacteroides fragilis*)、スタフィロコッカス・ホミニス (*Staphylococcus hominis*)、スタフィロコッカス・ワルネリ (*Staphylococcus warneri*)、スタフィロコッカス・ヘモリティカス (*Staphylococcus haemolyticus*)、エンテロバクター・クロアカ (*Enterobacter cloacae*)、エンテロバクター・アエロゲネス (*Enterobacter aerogenes*)、スタフィロコッカス・エピデルミディス (*Staphylococcus epidermidis*)、ストレプトコッカス・コンステラータス (*Streptococcus constellatus*)、セラチア・マルセッセンス (*Serratia marcescens*)、ストレプトコッカス・アンギノサス (*Streptococcus anginosus*)、エシェリシア・コリ (*Escherichia coli*)、クレブセラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumoniae*)、エンテロコッカス・フェカリス (*Enterococcus faecalis*)、エンテロコッカス・フェシウム (*Enterococcus faecium*)、ストレプトコッカス・サングイス (*Streptococcus sanguis*)、ストレプトコッカス・ミティス (*Streptococcus mitis*)、ストレプトコッカス・インターメディウス (*Streptococcus intermedius*)、リス

テリア・モノサイトゲネス (*Listeria monocytogenes*)、クロストリジウム・パー
フリンゲンス (*Clostridium perfringens*)、コリネバクテリウム・アクアチウム
(*Corynebacterium aquatium*)、ストレプトコッカス・オラリス (*Streptococcus*
oralis)、スタフィロコッカス・アウレウス (*Staphylococcus aureus*)、ナイセリ
ア・メニンギチデイス (*Neisseria meningitidis*)、カンピロバクター・フェタス
(*Campylobacter fetus*)、エンテロコッカス・ガリナルム (*Enterococcus*
gallinarum)、エンテロコッカス・カセリフラバス (*Enterococcus casseliflavus*)、
エロモナス・ハイドロフィラ (*Aeromonas hydrophila*)、サルモネラ・パラチフィ
A (*Salmonella paratyphi* A)、サルモネラ・チフィ (*Salmonella typhi*)、スト
レプトコッカス・エクイシミリス (*Streptococcus equisimilis*)、ストレプトコ
ッカス・カニス (*Streptococcus canis*)、クレブセラ・オキシトカ (*Klebsiella*
oxytoca)、スタフィロコッカス・サプロフィティカス (*Staphylococcus*
saprophyticus)、パスツレラ・ムルトシダ (*Pasteurella multocida*)、エイケネ
ラ・コロデンス (*Eikenella corrodens*)、ストレプトコッカス・ピオゲネス
(*Streptococcus pyogenes*)、モラキセラ・カタラリス (*Moraxella catarrhalis*)、
レジオネラ・ニューモフィラ (*Legionella pneumophila*)、マイコバクテリウム・
ツベルクロシス (*Mycobacterium tuberculosis*)、マイコバクテリウム・アビウム
(*Mycobacterium avium*)、マイコバクテリウム・イントラセルラレ (*Mycobacterium*
intracellulare)、マイコバクテリウム・カンサシ (*Mycobacterium kansasii*)、
マイコバクテリウム・ゴルドネ (*Mycobacterium gordonae*) から選択される 1 又
は複数の微生物を検出及び／又は同定するためのプローブであって、検出及び／
又は同定すべき微生物の 16S rRNA の V1、V2 及び／又は V3 領域内の 20～100bp
の各塩基配列又はその相補配列からなるプローブ。

(2) 配列番号 1～152 で示される塩基配列またはその相補配列から選ばれる、
(1) に記載のプローブ。

(3) 配列番号 1、2 又は 3 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ア
クチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンスを検出及び／又は同定するため
のプローブ。

(4) 配列番号 4、5 又は 6 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、

アシネトバクター・カルコアセチカスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(5) 配列番号 7、8 又は 9 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ヘモフィルス・インフルエンザを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(6) 配列番号 10、11 又は 12 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ステノトロフォモナス・マルトフィリアを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(7) 配列番号 13、14 又は 15 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、プロテウス・ミラビリスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(8) 配列番号 16、17 又は 18 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・ニューモニエを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(9) 配列番号 19、20 又は 21 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、シュードモナス・エルギノサを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(10) 配列番号 22、23 又は 24 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、シトロバクター・フレンディを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(11) 配列番号 25、26 又は 27 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ベイヨネラ・パルブーラを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(12) 配列番号 28、29 又は 30 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、プロビデンシア・スチュアーティを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(13) 配列番号 31、32 又は 33 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ナイセリア・ゴノローエを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(14) 配列番号 34、35 又は 36 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・アガラクチエを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(15) 配列番号 37、38 又は 39 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、モルガネラ・モルガニを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(16) 配列番号 40、41 又は 42 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、バクテロイデス・フラジリスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(17) 配列番号 43、44 又は 45 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、スタフィロコッカス・ホミニスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(18) 配列番号 46、47 又は 48 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、スタフィロコッカス・ワルネリを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(19) 配列番号 49、50 又は 51 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、スタフィロコッカス・ヘモリティカスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(20) 配列番号 52、23 又は 53 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エンテロバクター・クロアカを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(21) 配列番号 54、55 又は 56 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エンテロバクター・アエロゲネスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(22) 配列番号 57、58 又は 59 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、スタフィロコッカス・エピデルミデイスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(23) 配列番号 60、61 又は 62 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・コンステラータスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(24) 配列番号 63、23 又は 64 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、セラチア・マルセッセンスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(25) 配列番号 65、66 又は 67 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・アンギノサスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(26) 配列番号 68、69 又は 70 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エシェリシア・コリを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(27) 配列番号 54、71 又は 72 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、クレブセラ・ニューモニエを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(28) 配列番号 73、74 又は 75 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エンテロコッカス・フェカリスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(29) 配列番号 76、77 又は 78 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エンテロコッカス・フェシウムを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(30) 配列番号 79、80 又は 81 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む

む、ストレプトコッカス・サングイスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(31) 配列番号 82、83 又は 18 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・ミティスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(32) 配列番号 60、84 又は 67 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・インターメディウスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(33) 配列番号 85、86 又は 87 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、リステリア・モノサイトゲネスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(34) 配列番号 88、89 又は 90 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、クロストリジウム・パーフリゲンスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(35) 配列番号 91、92 又は 93 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、コリネバクテリウム・アクアチウムを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(36) 配列番号 94、95 又は 18 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・オラリスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(37) 配列番号 96、97 又は 98 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、スタフィロコッカス・アウレウスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(38) 配列番号 99、100 又は 101 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ナイセリア・メニンギチデイスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(39) 配列番号 102、103 又は 104 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、カンピロバクター・フェタスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(40) 配列番号 105、106 又は 107 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エンテロコッカス・ガリナルムを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(41) 配列番号 108、106 又は 109 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エンテロコッカス・カセリフラバスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(42) 配列番号 110、111 又は 112 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エロモナス・ハイドロフィラを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(43) 配列番号 113、114 又は 53 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、サルモネラ・パラチフィ A を検出及び／又は同定するためのプローブ。

(44) 配列番号 115、114 又は 53 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、サルモネラ・チフィを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(45) 配列番号 116、117 又は 118 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・エクイシミリスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(46) 配列番号 119、120 又は 121 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・カニスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(47) 配列番号 52、23 又は 122 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、クレブセラ・オキシトカを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(48) 配列番号 46、123 又は 124 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、スタフィロコッカス・サブロフィティカスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(49) 配列番号 125、126 又は 127 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、パスツレラ・ムルトシダを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(50) 配列番号 128、129 又は 130 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エイケネラ・コロデンスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(51) 配列番号 131、132 又は 133 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・ピオゲネスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(52) 配列番号 134、135 又は 136 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、モラキセラ・カタラリスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(53) 配列番号 137、138 又は 139 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、レジオネラ・ニューモフィラを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(54) 配列番号 140、141 又は 142 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、マイコバクテリウム・ツベルクロシスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(55) 配列番号 143、144 又は 145 に示される塩基配列、又はその相補配列を

含む、マイコバクテリウム・アビウムを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(56) 配列番号 146、147 又は 145 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、マイコバクテリウム・イントラセルラレを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(57) 配列番号 148、149 又は 145 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、マイコバクテリウム・カンサシを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(58) 配列番号 150、151 又は 152 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、マイコバクテリウム・ゴールドネを検出及び／又は同定するためのプローブ。

(59) 複数の微生物の 16S rRNA の塩基配列における相同性検索によって、それぞれの微生物における V1、V2、V3 領域を特定し、該 V1、V2、V3 領域の塩基配列において 2 種以上の微生物間で比較してミスマッチ部位を決定し、該ミスマッチ部位を含み、かつ塩基長が 20～100bp の領域を決定することを含む、プローブの設計方法。

(60) (1) 又は (2) に記載のプローブの 1 種以上を用いることを特徴とする、アクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンス、アシネトバクター・カルコアセチカス、ヘモフィルス・インフルエンザ、ステノトロフォモナス・マルトフィリア、プロテウス・ミラビリス、ストレプトコッカス・ニューモニエ、シュードモナス・エルギノサ、シトロバクター・フレンディ、ベイヨネラ・パルブーラ、プロビデンシア・スチュアーティ、ナイセリア・ゴノローエ、ストレプトコッカス・アガラクチエ、モルガネラ・モルガニ、バクテロイデス・フラジリス、スタフィロコッカス・ホミニス、スタフィロコッカス・ワルネリ、スタフィロコッカス・ヘモリティカス、エンテロバクター・クロアカ、エンテロバクター・アエロゲネス、スタフィロコッカス・エピデルミディス、ストレプトコッカス・コンステラータス、セラチア・マルセッセンス、ストレプトコッカス・アンギノサス、エシェリシア・コリ、クレブセラ・ニューモニエ、エンテロコッカス・フェカリス、エンテロコッカス・フェシウム、ストレプトコッカス・サングイス、ストレプトコッカス・ミティス、ストレプトコッカス・インターメディウス、リステリア・モノサイトゲネス、クロストリジウム・パーフリングENS、コリネバクテリウム・アクアチウム、ストレプトコッカス・オラリス、スタフィロコッカ

ス・アウレウス、ナイセリア・メニンギチデイス、カンピロバクター・フェタス、エンテロコッカス・ガリナルム、エンテロコッカス・カセリフラバス、エロモナス・ハイドロフィラ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・チフィ、ストレプトコッカス・エクイシミス、ストレプトコッカス・カニス、クレブセラ・オキシトカ、スタフィロコッカス・サブプロフィティカス、パスツレラ・ムルトシダ、エイケネラ・コロデンス、ストレプトコッカス・ピオゲネス、モラキセラ・カタラリス、レジオネラ・ニューモフィラ、マイコバクテリウム・ツベルクロシス、マイコバクテリウム・アビウム、マイコバクテリウム・イントラセルラレ、マイコバクテリウム・カンサシ、マイコバクテリウム・ゴルドネから選択される1又は複数の微生物の検出及び／又は同定方法。

(61) 微生物由来の塩基配列とプローブの塩基配列間でミスマッチが4個以上ある場合にハイブリダイズしないストリンジェンシー条件を用いて両配列をハイブリダイズさせることを含む、(60)に記載の方法。

(62) 同定すべき微生物の16S rRNAのV1、V2及びV3領域内の20～100bpの塩基配列又はその相補配列からなるプローブの塩基配列とのミスマッチが3個以下である塩基配列を有する2種以上の微生物を検出し、該2種以上の微生物と異なる微生物のV1、V2及びV3領域内の20～100bpの塩基配列又はその相補配列からなるプローブの1種以上を用い、該2種以上の微生物のうち1種の微生物をさらに同定することを含む、(60)又は(61)に記載の方法。

(63) 以下の工程：(a)同定すべき微生物から核酸を調製する工程、(b)該核酸を請求項1又は2に記載のプローブとハイブリダイズさせる工程、(c)工程(b)におけるハイブリダイズの有無を検出し、各プローブに対するその検出シグナルパターンを特定する工程、(d)工程(c)において得られた検出シグナルパターンと、予め特定しておいた微生物の検出シグナルパターンとを比較して同定すべき微生物の種類を特定する工程、からなる(60)又は(61)に記載の方法。

(64) 配列番号153及び154で示されるプライマーを用いて標的配列を含むヌクレオチドを増幅した後にプローブとハイブリダイズさせる、(60)～(63)のいずれかに記載の方法。

(65) 標的配列を含むヌクレオチドの増幅の際に、蛍光物質を用いて標識を

行う、(60)～(64)のいずれかに記載の方法。

(66) DNAチップ上で検出する、(60)～(65)のいずれかに記載の方法。

本明細書は本願の優先権の基礎である特願 2002-174564 号の明細書および/または図面に記載される内容を包含する。

図面の簡単な説明

図1は、微生物の16S rRNAの塩基配列中のV1、V2及びV3領域を示す図である。

配列表の説明

配列番号153は合成DNAである。

配列番号154は合成DNAである。

発明を実施するための形態

本発明の微生物検出同定用のプローブ及びそれを用いた検出及び/又は同定方法についてさらに詳細に説明する。

本発明の第1の態様は、前述の表1に示す微生物から選択される1または複数の微生物を検出及び/又は同定するためのプローブであって、検出及び/又は同定すべき微生物の16S rRNAのV1、V2及びV3領域内の20～100bpの塩基配列又はその相補配列からなるプローブである。

本発明においてプローブとは、核酸の相補的な配列が互いに特異的に結合する性質を利用して、DNAやRNA断片の中から特定の断片を検出し得るオリゴヌクレオチドDNAやRNAであり、特に、微生物由来の16S rRNAまたは16S rDNAに含まれるヌクレオチド配列を有する標的核酸と特異的に結合するオリゴヌクレオチド配列である。

本発明の各微生物を検出及び/又は同定し得るプローブは、各微生物の16S rRNAのV1、V2及びV3領域について検出同定対象の2種以上の微生物間でマルチプライメントを行ってミスマッチ部位を決定し、特に各微生物に対して特異性が高い領域を決定して当該プローブを作製することができる(図1参照)。本明細書において、V1、V2、V3領域とは、各微生物の16S rRNAの5'領域遺伝子配列

(約 500bp) のうち、保存性の低い 3 つの領域であって、V1 領域は 5' 末端からおおよそ第 50～第 120 番目の塩基の領域であり、V2 領域はおおよそ第 150～第 260 番目の塩基の領域であり、V3 領域はおおよそ第 420～第 520 番目の塩基の領域である。

これらの V1～V3 領域から作製し得る検出同定用プローブは、検出、同定感度の点から検出同定すべき微生物間においてミスマッチが多い領域を用いるのが適当であり、ミスマッチは 4 ヶ所以上存在するのが好ましい。また、同定方法における検出感度、コスト等を考慮すると、プローブの塩基配列は 20～100bp が好ましく、特に 30～80bp が好ましい。なお、これらのプローブは、対応する各々の領域に応じて、v1 プローブ、v2 プローブ、v3 プローブと称する。

これらのプローブは、表 1 に示す微生物が特異的に検出、同定出来る限り、一部が修飾され、又はその塩基配列に欠失、置換又は付加が存在していてもよい。

具体的には、表 1 に記載した微生物の 16S rRNA の塩基配列における相同性検索によってそれぞれの微生物における V1、V2、V3 領域を特定し、該 V1、V2、V3 領域において 2 種以上の微生物の塩基配列を比較してミスマッチ部位を決定する。その結果を基にして、該ミスマッチ部位を含み、かつ塩基長が 20～100bp のプローブを作製する。ミスマッチ部位はプローブの中央付近になるように設計するのが好ましい。表 1 に示す微生物のうち、その微生物自身の V1～V3 領域の塩基配列とその微生物以外の微生物由来の v1～v3 プローブの塩基配列の間に最小ミスマッチ数が 4 個以上ある微生物は、プローブを単独で用いることによって検出、同定可能な微生物である。また、最小ミスマッチ数が 3 個以下の微生物は、複数のプローブによる検出結果を総合的に判断することによって検出、同定可能な微生物である。

各微生物に対する検出同定用プローブの ID とその配列番号を表 2 及び表 3 に示す。

表 2

| 微生物名 | 同定プローブIDとその配列番号(括弧内が配列番号) |
|---|------------------------------------|
| <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> | 01v2(2), 01v3(3) |
| <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> | 02v1(4), 02 v2(5), 02 v3(6) |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 03v2(8), 03 v3(9) |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 04 v1(10), 04 v3(12) |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 05 v2(14) |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 07 v1(19), 07 v2(20), 07v3(21) |
| <i>Citrobacter freundii</i> | 08 v3(24) |
| <i>Veillonella parvula</i> | 09 v1(25), 09 v2(26), 09 v3(27) |
| <i>Providencia stuartii</i> | 10 v2(29), 10 v3(30) |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 11 v3(33) |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | 12 v1(34), 12 v2(35), 12 v3(36) |
| <i>Morganella morganii</i> | 13 v2(38), 13 v3(39) |
| <i>Bacteroides fragilis</i> | 14 v1(40), 14v2(41), 14 v3(42) |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | 19 v3(56) |
| <i>Streptococcus constellatus</i> | 21 v3(63) |
| <i>Serratia marcescens</i> | 22 v1(63), 22 v3(64) |
| <i>Streptococcus anginosus</i> | 23 v1(65), 23 v2(66) |
| <i>Escherichia coli</i> | 24 v3(70) |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 26 v1(73), 26 v2(74), 26 v3(75) |
| <i>Enterococcus faecium</i> | 27 v1(76), 27 v2(77) |
| <i>Streptococcus sanguis</i> | 28 v1(79), 28 v2(80) |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 31 v1(85), 31 v2(86), 31 v3(87) |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 32 v1(88), 32 v2(89), 32 v3(90) |
| <i>Corynebacterium aquatium</i> | 33 v1(91), 33 v2(92), 33 v3(93) |
| <i>Streptococcus oralis</i> | 34 v1(94) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 35 v1(96) |
| <i>Neisseria meningitidis</i> | 36 v3(101) |
| <i>Campylobacter fetus</i> | 37 v1(102), 37 v2(103), 37 v3(104) |
| <i>Aeromonas hydrophila</i> | 40 v1(110), 40 v2(111), 40 v3(112) |
| <i>Streptococcus equisimilis</i> | 43 v2(117) |
| <i>Streptococcus canis</i> | 44 v1(119), 44 v2(120), 44 v3(121) |
| <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | 46 v2(123) |
| <i>Pasteurella multocida</i> | 47 v2(126), 47 v3(127) |
| <i>Eikenella corrodens</i> | 48 v1(128), 48 v2(129), 48 v3(130) |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | 49 v2(132) |
| <i>Moraxella catarrhalis</i> | 50 v1(134), 50 v2(135), 50 v3(136) |
| <i>Legionella pneumophila</i> | 51 v1(137), 51 v2(138), 51v3(139) |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 52 v2(141) |
| <i>Mycobacterium avium</i> | 53 v2(144) |
| <i>Mycobacterium intracellulare</i> | 54 v2(147) |
| <i>Mycobacterium kansasii</i> | 55 v2(149) |
| <i>Mycobacterium goodii</i> | 56 v1(150), 56 v2(151) |

表 3

| 微生物名 | 同定に使用するプローブIDとその配列番号(括弧内が配列番号) |
|------------------------------------|--|
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 06 v1~v3(16~18)、29 v1~v3(82、83、18)、34 v1~v3(94、95、18) |
| <i>Staphylococcus hominis</i> | 20 v1~v3(57~19)、46 v1~v3(46、123、124)、15 v1~v3(43~45)、17 v1~v3(49~51)、16 v1~v3(46~48)、35 v1(96) |
| <i>Staphylococcus warneri</i> | 20 v1~v3(57~19)、46 v1~v3(46、123、124)、15 v1~v3(43~45)、17 v1~v3(49~51)、16 v1~v3(46~48)、35 v1(96) |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i> | 20 v1~v3(57~19)、46 v1~v3(46、123、124)、15 v1~v3(43~45)、17 v1~v3(49~51)、16 v1~v3(46~48)、35 v1(96) |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 08 v1~v3(22~24)、18 v1~v3(52、23、53)、22 v1~v3(63、23、64)、41 v1~v3(113、114、53)、42 v1~v3(115、114、53)、45 v1~v3(52、23、122)、19 v1~v3(54~56)、25 v1~v3(54、71、72)、24 v1~v3(68~70) |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 20 v1~v3(57~19)、46 v1~v3(46、123、124)、15 v1~v3(43~45)、17 v1~v3(49~51)、16 v1~v3(46~48)、35 v1(96) |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 08 v1~v3(22~24)、18 v1~v3(52、23、53)、22 v1~v3(63、23、64)、41 v1~v3(113、114、53)、42 v1~v3(115、114、53)、45 v1~v3(52、23、122)、19 v1~v3(54~56)、25 v1~v3(54、71、72)、24 v1~v3(68~70) |
| <i>Streptococcus mitis</i> | 06 v1~v3(16~18)、29 v1~v3(82、83、18)、34 v1~v3(94、95、18) |
| <i>Streptococcus intermedius</i> | 21 v1~v3(60~62)、23 v1~v3(65~67)、30 v1~v3(60、84、67) |
| <i>Enterococcus gallinarum</i> | 28 v1~v3(79~81)、38 v1~v3(105~107)、39 v1~v3(108、106、109)、27 v1~v3(76~78) |
| <i>Enterococcus casseliflavus</i> | 28 v1~v3(79~81)、38 v1~v3(105~107)、39 v1~v3(108、106、109)、27 v1~v3(76~78) |
| <i>Salmonella paratyphi A</i> | 08 v1~v3(22~24)、18 v1~v3(52、23、53)、22 v1~v3(63、23、64)、41 v1~v3(113、114、53)、42 v1~v3(115、114、53)、45 v1~v3(52、23、122)、19 v1~v3(54~56)、25 v1~v3(54、71、72)、24 v1~v3(68~70) |
| <i>Salmonella typhi</i> | 08 v1~v3(22~24)、18 v1~v3(52、23、53)、22 v1~v3(63、23、64)、41 v1~v3(113、114、53)、42 v1~v3(115、114、53)、45 v1~v3(52、23、122)、19 v1~v3(54~56)、25 v1~v3(54、71、72)、24 v1~v3(68~70) |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 08 v1~v3(22~24)、18 v1~v3(52、23、53)、22 v1~v3(63、23、64)、41 v1~v3(113、114、53)、42 v1~v3(115、114、53)、45 v1~v3(52、23、122)、19 v1~v3(54~56)、25 v1~v3(54、71、72)、24 v1~v3(68~70) |

表 2 は、単独で微生物の同定が可能なプローブを、表 3 は、組み合わせて同定が可能なプローブの例を示す。

例えば、表 2 からわかるように、アクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンスを単独で特異的に検出同定し得るプローブは、配列番号 2 に示される塩基配列を有する 01 v2 プローブ及び配列番号 3 に示される塩基配列を有する 01 v3 プローブ、またはそれぞれの相補配列を有するプローブであり、アシネトバクター・カルコアセティカスを単独で特異的に検出同定し得るプローブは、配列番号 4 に示される塩基配列を有する 02 v1 プローブ、配列番号 5 に示される塩基配列を有する 02 v2 プローブ、配列番号 6 に示される塩基配列を有する 02 v3 プローブ、またはそれぞれの相補配列を有するプローブである。

また、表 3 には、他の微生物との 16S rRNA 遺伝子配列が類似しているため、単独プローブによる検出・同定が困難な微生物を示してある。これら微生物の場合には、該当微生物の検出用に設計されたプローブだけでなく、他の微生物の検出用に設計されたプローブによるハイブリダイゼーションパターンを利用して、個々の微生物の検出同定を行う。例えば、表 4 に示されるように、ストレプトコッカス・ニューモニエを検出するための配列番号 16～18 のプローブ 06 v1～v3 はいずれも、V1～V3 領域で他の微生物との間で最小のミスマッチ数が 3 塩基以内であるため、単独でストレプトコッカス・ニューモニエの検出・同定が困難である。そこで、配列番号 16～18 のプローブ 06 v1～v3 だけでなく、配列番号 82、83、18 のプローブ 29 v1～v3 および、配列番号 94、95、18 のプローブ 34 v1～v3、またはそれぞれの相補配列を有するプローブの検出結果を組み合わせて利用することで、検出・同定を行う。

これらのプローブは、天然由来のものであっても、化学合成等の常法によるものであってもよく、化学合成は、例えば ABI 社 (Applied Biosystem Inc.) の DNA シンセサイザーを用いてホスホロアミダイト法により合成できる。また、公知のリン酸トリエステル法、H-ホスホネート法、ホスファイト法等を用いることもできる。

本発明の第 2 の態様は、表 1 に示す微生物から選択される 1 または複数の微生物の検出及び／又は同定方法であって、検出同定すべき微生物の 16S rRNA の V1、

V2 及び V3 領域内の 20～100bp の塩基配列又はその相補配列からなるプローブの 1 以上を用いることを特徴とする方法である。

すなわち、具体的には、本発明の検出同定方法は、微生物又はそれ由来の核酸を含む被検体に上記プローブを接触させてハイブリダイゼーションを行い、標識を指標にして表 1 の微生物を検出、同定する方法である。

微生物又はそれ由来の核酸を含む被検体は、核酸が微量である場合には、表 1 に示す微生物の 16S rDNA の V1～V3 領域を含む塩基配列を増幅させることができるプライマーを用いて増幅させる。なお、プライマーとは、核酸の合成反応にあたりポリヌクレオチド鎖が伸長していく出発点として働くポリヌクレオチドであり、本発明におけるフォワードプライマーは、V1 領域より上流の各微生物間において保存性の高い領域であるおおよそ 1 から 70 番目の塩基に存在する領域から設計するのが好ましく、リバープライマーは、V3 領域より下流の各微生物間において保存性の高い領域であるおおよそ 450 から 620 番目の塩基に存在する領域から設計するのが好ましい。また、そのサイズは、15～35mer が好ましく、特に 18～30mer が好ましい。例えば、一例として、フォワードプライマーとしては、おおよそ第 1 から第 70 番目の塩基に位置する、以下の配列番号 153 に示される 27F プライマー、リバープライマーとしては、おおよそ第 450 から第 620 番目の塩基に位置する、以下の配列番号 154 に示される 525R を用いることができる。これらのプライマーは天然由来のものであっても、常法により化学合成されたものであってもよい。化学合成は、例えば ABI 社 (Applied Biosystem Inc.) の DNA シンセサイザーを用いてホスホロアミダイト法により合成できる。また、公知のリン酸トリエステル法、H-ホスホネート法、ホスファイト法等を用いることもできる。

フォワードプライマー 27F (配列番号 153) : 5' agagtttgatcctggctcag 3'

リバープライマー 525R (配列番号 154) : 5' gtattaccgcggtgctggcag 3'

微生物又はそれ由来の核酸を含む被検体は、予め以下のような常法により調製し、上記のプライマーを用いた PCR 増幅に供する。例えば、サンプルから遠心分離法やメンブランフィルター等を用いて捕集された微生物に溶菌酵素、界面活性剤、アルカリ等の公知の処理方法を用いて核酸を抽出する。このうち、抽出の効

率や純度、操作性の点などから、溶菌酵素を加える方法を用いるのが好ましい。なお、本発明において、核酸には RNA、DNA が含まれる。また、本発明では、核酸が数分子から数十分子以上存在すれば PCR は達成され得る。サンプルとしては、例えば、糞便、尿、血液、組織ホモジェネート等の臨床検査材料、及び、食品材料等が挙げられる。

次に、抽出した核酸を鋳型とし、上記のプライマーを用いて PCR 法 (Science 230, 1350 (1985)) を実施する。本発明においては、上記プライマー (配列番号 153 及び 154) を用いることによって、微生物の 16S rDNA の塩基配列の 5' 末端からおおよそ第 27～第 525 番目の塩基及びその近傍の配列を増幅させることが好ましい。PCR 法の反応条件や反応溶液は公知の情報に基づいて任意に設定することができる。例えば、熱変性：90～95℃で 1～30 秒、アニーリング：37～65℃で 0～30 秒、伸長反応：50～75℃で 10～60 秒、これを 1 サイクルとして 30～50 サイクル行って増幅するのが好ましい。PCR 法を増幅結果は、必要に応じ、反応を終えた溶液をそのままアガロースゲル電気泳動にかけることで、増幅されたヌクレオチドの存在、及びその長さを確認することができる。

増幅された微生物の核酸は、上記の本発明のプロープを用いたハイブリダイゼーションに用いることができる。本発明において、ハイブリダイゼーションとは、特定の条件下において、相補的な配列を有する 2 つの 1 本鎖の塩基配列が結合して、2 本鎖を形成することを意味する。また、特定の条件とは、ハイブリダイゼーションにおけるストリンジェンシーな条件を意味し、特に、本発明では、微生物由来の塩基配列と本発明のプロープの塩基配列間でミスマッチが 4 個以上ある場合にハイブリダイズしない条件を意味する。ストリンジェンシーな条件は、実施されるハイブリダイゼーションの条件によって異なるが、当業者であればハイブリダイゼーションのプロトコルに基づいて、温度、塩濃度、活性剤濃度等の溶媒組成等の条件を適宜設定することができる。一例としては、50mer のプロープとのハイブリダイゼーションの場合、55℃、0.5×SSC、0.2% SDS で実施することができる。なお、目的に応じ、ストリンジェンシーを高くすることによって、ミスマッチ数が 3 個以上、2 個以上、又は 1 個以上でハイブリダイズすることができないように設定することが可能である。また、ストリンジェンシーを低くする

ことによって、ミスマッチが5個以下、6個以下等でもハイブリダイズできるように設定することもできる。

ハイブリダイズの可否は、上記のように調製した微生物から抽出し、増幅した核酸を予めフルオロセインイソチオシアネートやテトラメチルローダミンイソチオシアネート等の蛍光物質やハプテン等で標識し、プローブを前記の標識化した核酸とハイブリダイズさせた後、蛍光色素等の標識を測定することによって確認することができる。標識化は、例えば、ニックトランスレーション法、DNA ポリメラーゼを用いる方法や5'側の末端が蛍光物質またはハプテン等で標識された標識化プライマーを用いて核酸増幅を行うことにより得ることができる。

本発明の検出同定方法には、単独のプローブの使用によって、表2に示す特定の微生物を検出、同定する方法が含まれる。例えば、同定すべき微生物自身のV1～V3領域内の20～100bpの塩基配列又はその相補配列からなるプローブの塩基配列と、その微生物以外の微生物由来の塩基配列との間に最小ミスマッチ数が4個以上存在する前記プローブを使用することによって、微生物を検出するとともに同定することができる（表2及び表4を参照）。

また、本発明の方法には、本発明の複数のプローブによる検出結果を総合的に判断することによって、表3に示す特定の微生物を検出し、さらに同定する方法も含まれる。具体的には、第1ステップとして、同定すべき微生物の16S rRNAのV1、V2及びV3領域内の20～100bpの塩基配列又はその相補配列からなるプローブの塩基配列とのミスマッチが3個以下である塩基配列を有する2種以上の微生物を検出し、第2ステップとして、該2種以上の微生物と異なる微生物のV1、V2及びV3領域内の20～100bpの塩基配列又はその相補配列からなるプローブの1種以上を用い、該2種以上の微生物のうち1種の微生物をさらに同定する方法である。

例えば、一例を表61に示している（実施例3参照）。ID 06 微生物（ストレプトコッカス・ニューモニエ）の06 v1～v3 プローブとID 29 微生物（ストレプトコッカス・ミティス）に対応する塩基配列とはミスマッチが3個以下であるので、06 v1～v3 プローブを用いて検出される微生物は、ID 06 微生物とID 29 微生物のいずれであるかまでは同定できない。しかしながら、第2ステップとして、ID 34

微生物（ストレプトコッカス・オラリス）由来の 34 v1～v3 プローブを用いて検出方法を行うと、ID 06 微生物は 34 v3 プローブとのみハイブリダイズしてシグナルが検出され、ID 29 微生物は 34 v2 及び v3 プローブとそれぞれハイブリダイズしてシグナルが検出される。従って、06 v1～v3 プローブを用いて検出された微生物は、さらに ID 34 微生物（ストレプトコッカス・オラリス）由来の 34 v1～v3 プローブを用いた検出を行うことによって、ID 06 微生物であるか ID 29 微生物であるかを同定することができる。

なお、臨床や食品衛生の分野において、検出すべき微生物が試料中に存在する可能性があるか否かをいち早く確認することが必要であり、微生物の同定まで行う必要がない場合、また、同時に検出され得る複数の微生物が近縁の種であり、それら複数の微生物に対する治療方法などの対処方法がすでに明らかである場合には、上記の第 1 ステップを実施するだけでよい。

また、本発明の方法には、(a) 同定すべき微生物から核酸を調製する工程、(b) 該核酸を本発明のプローブとハイブリダイズさせる工程、(c) 工程 (b) におけるハイブリダイズの有無を検出し、各プローブに対するその検出シグナルパターンを特定する工程、(d) 工程 (c) において得られた検出シグナルパターンと、予め特定しておいた、表 1 に示す微生物の検出シグナルパターンとを比較して同定すべき微生物の種類を特定する工程からなる方法も含まれる。この場合、検出シグナルパターンをコンピュータ処理等によって解析することによって、微生物の検出、同定効率を一層高めることができる。また、この検出シグナルパターンによる方法は、DNA チップ上で実施することによって、より迅速に、効果的に行うことができる。

DNA チップ上での検出同定方法としては、具体的には、以下のように実施することができる。本発明のプローブを、例えば、ガラス、シリコン等の支持体上の各位置（スポット）に共有結合等により固定化する。その支持体上に、上記のようにして得られた標識化核酸を含む溶液をかけると、各スポット内のプローブの塩基配列に相補的な塩基配列を有する試料中の微生物由来核酸の塩基配列がハイブリダイズして二本鎖を形成し、支持体上に残る。ハイブリダイゼーションした結合体の標識又はハイブリダイゼーションしなかった標識を測定することによっ

て、被検体中の微生物を検出同定することができる。

実施例

以下に実施例を示し、本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

[実施例 1] 微生物同定用プローブの調製と同定チップの作製 (プローブ調製用微生物)

本発明のプローブを調製するために、表 1 に示す微生物を標準菌株として用いた。なお、微生物は、American Type Culture Collection (ATCC 株)、独立行政法人 製品評価技術基盤機構 生物遺伝資源部門 (財団法人発酵研究所 (IFO) の微生物株分譲業務を引継ぎ、微生物の分譲を行っている) (IFO 株)、東京大学医科学研究所 (IID 株) 等から入手可能である。

(微生物の 16S rDNA 5' 領域遺伝子配列 (約 500bp) の V1、V2、V3 領域の決定とプローブとして利用可能な塩基配列の決定とプローブの調製)

表 1 に示す微生物の V1、V2、V3 領域は、16S rRNA をシーケンサー (Applied Biosystem 社) で解読した塩基配列についてマルチプルアライメント (日立ソフト DNASIS Pro) を実行し、決定した。更に、ブラストと呼ばれるアルゴリズム (日立ソフト DNASIS Pro) を用いて、それらの領域においてミスマッチ部位を特定した。該ミスマッチ部位が中央付近にくるようにプローブの塩基配列を設計した。

表 4 に、それぞれの微生物について設計された v1~v3 プローブについて、各プローブが由来する微生物以外の微生物の V1~V3 領域の配列とハイブリダイズさせることを想定した場合のミスマッチ塩基数の中で最小となる数値 (最小ミスマッチ数) を示す。v1~v3 プローブのいずれかにおいて最小ミスマッチ数が 4 以上であれば、単独のプローブによってその微生物が検出・同定可能である。v1~v3 プローブのいずれにおいても最小ミスマッチ数が 3 以下であるばあいには単独のプローブによって検出・同定ができないが、後述するように本発明の方法によって検出・同定できる。なお、表 4 中、none とは、有意な相同性のある配列がなかったということを表す。

表 4

| 微生物 ID | 微生物名 | V1領域でのv1プローブとの最小ミスマッチ数 | V2領域でのv2プローブとの最小ミスマッチ数 | V3領域でのv3プローブとの最小ミスマッチ数 | 単独プローブで検出可能な微生物 | 複数のプローブで検出可能となる微生物 |
|--------|---|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------|--------------------|
| 01 | <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> | 1 | 9 | 5 | ○ | |
| 02 | <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> | 12 | 7 | 15 | ○ | |
| 03 | <i>Haemophilus influenzae</i> | 1 | 9 | 5 | ○ | |
| 04 | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 4 | 3 | 18 | ○ | |
| 05 | <i>Proteus mirabilis</i> | 3 | 7 | 3 | ○ | |
| 06 | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 1 | 2 | 0 | | ○ |
| 07 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 12 | 6 | 14 | ○ | |
| 08 | <i>Citrobacter freundii</i> | 3 | 0 | 4 | ○ | |
| 09 | <i>Veillonella parvula</i> | 17 | none | 27 | ○ | |
| 10 | <i>Providencia stuartii</i> | 3 | 5 | 7 | ○ | |
| 11 | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 2 | 2 | 4 | ○ | |
| 12 | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 8 | 6 | 4 | ○ | |
| 13 | <i>Morganella morganii</i> | 3 | 5 | 8 | ○ | |
| 14 | <i>Bacteroides fragilis</i> | 5 | 23 | none | ○ | |
| 15 | <i>Staphylococcus hominis</i> | 1 | 1 | 1 | | ○ |
| 16 | <i>Staphylococcus warneri</i> | 0 | 3 | 2 | | ○ |
| 17 | <i>Staphylococcus haemolyticus</i> | 1 | 1 | 2 | | ○ |
| 18 | <i>Enterobacter cloacae</i> | 0 | 0 | 0 | | ○ |
| 19 | <i>Enterobacter aerogenes</i> | 0 | 1 | 4 | ○ | |
| 20 | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 1 | 3 | 2 | | ○ |
| 21 | <i>Streptococcus constellatus</i> | 0 | 1 | 4 | ○ | |
| 22 | <i>Serratia marcescens</i> | 5 | 0 | 10 | ○ | |
| 23 | <i>Streptococcus anginosus</i> | 33 | 9 | 0 | ○ | |
| 24 | <i>Escherichia coli</i> | 1 | 1 | 9 | ○ | |
| 25 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 0 | 1 | 3 | | ○ |
| 26 | <i>Enterococcus faecalis</i> | 15 | 11 | 7 | ○ | |
| 27 | <i>Enterococcus faecium</i> | 4 | 12 | 2 | ○ | |
| 28 | <i>Streptococcus sanguis</i> | 4 | 11 | 1 | ○ | |
| 29 | <i>Streptococcus mitis</i> | 1 | 1 | 0 | | ○ |
| 30 | <i>Streptococcus intermedius</i> | 0 | 0 | 0 | | ○ |
| 31 | <i>Listeria monocytogenes</i> | 9 | 17 | 4 | ○ | |
| 32 | <i>Clostridium perfringens</i> | 19 | 27 | 15 | ○ | |
| 33 | <i>Corynebacterium aquatium</i> | 10 | none | 24 | ○ | |
| 34 | <i>Streptococcus oralis</i> | 8 | 1 | 0 | ○ | |
| 35 | <i>Staphylococcus aureus</i> | 4 | 3 | 2 | ○ | |
| 36 | <i>Neisseria meningitidis</i> | 2 | 2 | 4 | ○ | |
| 37 | <i>Campylobacter fetus</i> | 15 | 23 | 13 | ○ | |
| 38 | <i>Enterococcus gallinarum</i> | 1 | 0 | 2 | | ○ |
| 39 | <i>Enterococcus casseliflavus</i> | 1 | 0 | 2 | | ○ |
| 40 | <i>Aeromonas hydrophila</i> | 22 | 4 | 17 | ○ | |
| 41 | <i>Salmonella paratyphi A</i> | 1 | 0 | 0 | | ○ |
| 42 | <i>Salmonella typhi</i> | 1 | 0 | 0 | | ○ |
| 43 | <i>Streptococcus equisimilis</i> | 2 | 7 | 1 | ○ | |
| 44 | <i>Streptococcus canis</i> | 4 | 6 | 7 | ○ | |
| 45 | <i>Klebsiella oxytoca</i> | 0 | 0 | 3 | | ○ |

| | | | | | | |
|----|-------------------------------------|----|----|----|---|--|
| 46 | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | 0 | 5 | 1 | ○ | |
| 47 | <i>Pasteurella multocida</i> | 2 | 9 | 15 | ○ | |
| 48 | <i>Eikenella corrodens</i> | 24 | 9 | 13 | ○ | |
| 49 | <i>Streptococcus pyogenes</i> | 2 | 6 | 1 | ○ | |
| 50 | <i>Moraxella catarrhalis</i> | 22 | 20 | 14 | ○ | |
| 51 | <i>Legionella pneumophila</i> | 12 | 15 | 20 | ○ | |
| 52 | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 1 | 6 | 0 | ○ | |
| 53 | <i>Mycobacterium avium</i> | 2 | 5 | 0 | ○ | |
| 54 | <i>Mycobacterium intracellulare</i> | 2 | 5 | 0 | ○ | |
| 55 | <i>Mycobacterium kansasii</i> | 1 | 6 | 0 | ○ | |
| 56 | <i>Mycobacterium gordonae</i> | 5 | 5 | 2 | ○ | |

(DNA チップの作製)

表 1 に示す微生物の各 v1～v3 プローブを合成し、HPLC 精製の後凍結乾燥した状態で保存した。これらを 20 μ M に調整し、マイクロアレイスポットティングソリューション (ジェネティックス社) と 1:1 で混合した。全てのサンプルをスポッター (日立ソフト社 SPBIO) にて 2×4 ブロックにスポットし、レプリカを含め合計 4×4 ブロックとした。それぞれのブロックの 4 端にはポジティブコントロールをスポットした。スポッターで使用するピンは、ステンレス・スチールピン 150 μ m とした。スポットした後、0.2 % SDS 溶液・水・沸騰水に入れ、スライドウォッシャー (バイオフィールド社) にてチップを洗浄し、以下の実験に用いた。

[実施例 2] 微生物同定プローブを用いた微生物の同定方法

(微生物 DNA 抽出溶液の調製)

表 1 に示す微生物を LB 培地寒天培地 (酵母エキス 5g、トリプトン 10g、NaCl 5g、寒天 20g、蒸留水 1L、pH7.4) で培養した後、集菌した。300 μ l の 1% Tween20 (シグマ)、60Unit Lytic Enzyme (Gentra Systems)、600Unit Achromopeptidase (和光純薬) を含む Cell Suspension Solution (Gentra Systems) 溶液 (溶菌酵素液) を加え懸濁し、37°C で 2 時間加温した。次に、600mU / μ l Proteinase K 溶液を 30 μ l 加え、70°C で 10 分間加温した。

この溶液に 5M グアニジン塩酸-100mM トリス塩酸溶液 (pH 8.0) を 330 μ l 加え、10 分間混合した。その後、TE 飽和フェノール：クロロホルム液 (1:1) 600 μ l を加えて懸濁した後、微量高速遠心分離機を用い 15,000rpm 10 分間 25°C で遠心分離した。上層を 600 μ l 分取し、60 μ l の 3M 酢酸ナトリウム (pH6.0)、1800 μ l の

99.5%エタノールを加え混和し、 -80°C で10分間放置後、8,000rpm 15分間 4°C で遠心分離した。70%冷エタノールでリンスした後、沈殿を乾燥させ、滅菌蒸留水 $100\mu\text{l}$ を加えて十分に溶解した。この溶液をPCRに供した。

(PCRによるターゲットDNAの増幅)

PCRは、GeneAmp9600システム (Roche diagnostics 社) を使用し、 $50\mu\text{l}$ の反応液量で行った。反応液 $50\mu\text{l}$ 中には、 $1\mu\text{l}$ の鋳型DNA (上記微生物DNA抽出溶液)、 $5\mu\text{l}$ の10Xバッファー (Z-Taq用)、0.75 units Z-Taq (宝酒造)、6 nmole dNTPs、フォワードプライマー27F (配列番号 153)、リバープライマー525R (配列番号 154) 各 6 pmole が含まれる。

PCRの条件は、 98°C で2分の後、 98°C で1秒、 60°C で90秒を1サイクルとし、35サイクル反応させ、微生物中のターゲット遺伝子のPCR増幅産物を得た。反応終了後、SephadexTM G50 Fine (Amersham pharmacia biotech)によるスピンカラム法により基質を除去後、凍結乾燥により濃縮乾固させ、 $10\mu\text{l}$ の滅菌超純水にて溶解し、ターゲットDNA溶液とした。

(PCR増幅産物の標識)

Nick Translation Kit (ロシュ・ダイアグノスティックス社) を用いて、上記のターゲットDNAをFluoroLinkTM Cy 5-dUTP (Amersham pharmacia biotech)で標識した。標識反応液 $20\mu\text{l}$ 中には、 $1\mu\text{g}$ の上記ターゲットDNA溶液、 $3.5\mu\text{l}$ Enzyme mixture、0.04mM dATP、0.04 mM dCTP、0.04 mM dGTP、 $2\mu\text{l}$ 10x buffer、0.1 mM FluoroLinkTM Cy 5-dUTP が含まれる。反応条件は、 15°C 、2時間で行った。反応後、SephadexTM G50 Fine (Amersham pharmacia biotech)によるスピンカラム法で精製した。精製した反応物を凍結乾燥し、 $10\mu\text{l}$ 滅菌超純水に溶解した。

(ハイブリダイゼーション)

$2\mu\text{l}$ の上記標識ターゲットDNAを加えて、最終濃度が50%ホルムアミド、5x SSC、2% SDS、1% BSAとなるようにハイブリダイゼーション溶液を調整した。この溶液 $15\mu\text{l}$ を 98°C 、2分間ディネイチャーさせた。

実施例1で作製した微生物同定チップ上に滴下し、 $24 \times 25\text{mm}$ ハイブリカバースライド (ビーエム機器社) を乗せ、 55°C の恒温槽で2時間反応させた。反応後、細菌同定チップを2x ssc溶液に浸し、ハイブリカバースライドを滑り落とした。

さらに、2x SSC、0.2% SDS 溶液へ移し、5 分間洗浄後、0.2x SSC、0.2% SDS で 5 分間洗浄した。さらに 0.5x SSC で 1 分間洗浄した。

微生物同定チップを 2000rpm、1 分間遠心乾燥した後、ScanArray 4000 (Packard BioChip Technologies, LLC) で常温、室温の元、シグナル検出した。なお、シグナルの強度をより明確に判断するために、検出されたシグナルを日立ソフト DNASIS (登録商標) Array によって数値化し、輝度値とした。

表 5 には、微生物 ID 01 のアクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンスの 16S rRNA の V1~V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドを微生物同定チップに調製された各微生物の v1 プローブ、v2 プローブ及び v3 プローブとハイブリダイズさせ、シグナルの輝度値が高かった上位 10 種類のプローブを各領域毎に示した。表 5 中、プローブ ID は、表 1 に示す微生物 ID の番号と v1~v3 領域を組み合わせて示している。

例えば、アクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンスの 16S rRNA の V1 領域の結果をみると、プローブ 01 v1 の輝度値が著しく高いので、プローブ 01 v1 は被検体中にアクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンスが存在する可能性があることを検出することができる。ただし、この場合、プローブ 01 v1 以外にプローブ 03 v1 が類似の輝度値を示すので、プローブ 01 v1 の単独使用による同定はできない。これは、プローブ 01 v1 の塩基配列が他の微生物由来の塩基配列に対してミスマッチ塩基数が 3 個以下であるため、類似のプローブ 01 v1 と相溶性の高い塩基配列を有する他の微生物ともハイブリダイズしてしまうからである (表 1 を参照)。従って、プローブ 01 v1 によって検出された微生物がいずれの微生物であるかを詳細に同定する必要がある場合には、さらなる同定ステップを行う必要がある。

一方、アクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンスの 16S rRNA V2 領域の結果をみると、プローブ 01 v2 の輝度値のオーダーが他のプローブに比べて著しく高いので、プローブ 01 v2 を用いて被検体中のアクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンスの存在を検出、同定することができる。

また、アクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンスの 16S rRNA V3 領域の結果をみると、プローブ 01 v3 の輝度値のオーダーが他のプローブに比べて著

しく高いので、プローブ 01 v3 を用いて被検体中のアクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンスの存在を検出、同定することができる。

また、V1 領域、V2 領域、V3 領域のプローブの組合せから総合的に判断して、v1 プローブにおいて比較的シグナル強度の高いプローブは 03 v1 および 01 v1 であり、v2 プローブにおいて比較的シグナル強度の高いプローブは 01 v2 であり、v3 プローブにおいて比較的シグナル強度の強いプローブは 01 v3 であることから、対象微生物は、全ての領域に共通して強いシグナル強度が検出されたアクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンスであると検出・同定することができる。

表 5

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 03 v1 | V1 領域 | 24292772 |
| 01 v1 | V1 領域 | 23806916 |
| 05 v1 | V1 領域 | 6665238 |
| 47 v1 | V1 領域 | 3385259 |
| 24 v1 | V1 領域 | 2169069 |
| 41 v1 | V1 領域 | 2168168 |
| 42 v1 | V1 領域 | 2021318 |
| 13 v1 | V1 領域 | 1865555 |
| 08 v1 | V1 領域 | 1833450 |
| 36 v1 | V1 領域 | 1520337 |
| 01 v2 | V2 領域 | 24106717 |
| 03 v2 | V2 領域 | 8121296 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 507673 |
| 25 v2 | V2 領域 | 473566 |
| 20 v2 | V2 領域 | 467841 |
| 07 v2 | V2 領域 | 457081 |
| 19 v2 | V2 領域 | 452294 |
| 47 v2 | V2 領域 | 444574 |
| 23 v2 | V2 領域 | 444368 |
| 26 v2 | V2 領域 | 443460 |
| 01 v3 | V3 領域 | 44018306 |
| 03 v3 | V3 領域 | 1563637 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 1008301 |
| 05 v3 | V3 領域 | 458131 |
| 46 v3 | V3 領域 | 446885 |
| 12 v3 | V3 領域 | 441418 |
| 16 v3 | V3 領域 | 440355 |
| 45 v3 | V3 領域 | 437947 |
| 15 v3 | V3 領域 | 436469 |
| 26 v3 | V3 領域 | 433456 |

表 6 は、アシネトバクター・カルコアセチカス（微生物 ID 02）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 6 の結果から、アシネトバクター・カルコアセチカスは、プローブ 02 v1、02 v2、02 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 02 v1、v2 プローブでは 02 v2、v3 プローブでは 02 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたアシネトバクター・カルコアセチカスであると検出・同定することができる。

表 6

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 02 v1 | V1 領域 | 13924050 |
| 07 v1 | V1 領域 | 1862320 |
| 20 v1 | V1 領域 | 1378305 |
| 32 v1 | V1 領域 | 1327221 |
| 13 v1 | V1 領域 | 1232256 |
| 17 v1 | V1 領域 | 1145747 |
| 50 v1 | V1 領域 | 1133280 |
| 35 v1 | V1 領域 | 1115164 |
| 16.46 v1 | V1 領域 | 1091812 |
| 22 v1 | V1 領域 | 1072129 |
| 02_v2 | V2 領域 | 14595023 |
| 04_v2 | V2 領域 | 6953521 |
| 07 v2 | V2 領域 | 5933146 |
| 36 v2 | V2 領域 | 4666635 |
| 40 v2 | V2 領域 | 3464230 |
| 50 v2 | V2 領域 | 1883560 |
| 05 v2 | V2 領域 | 1765482 |
| 11 v2 | V2 領域 | 1536763 |
| 10 v2 | V2 領域 | 545853 |
| 08.18.22.45 v2 | V2 領域 | 321589 |
| 02 v3 | V3 領域 | 17774582 |
| 08 v3 | V3 領域 | 240445 |
| 05 v3 | V3 領域 | 240110 |
| 19 v3 | V3 領域 | 232178 |
| 38 v3 | V3 領域 | 206877 |
| 22 v3 | V3 領域 | 204959 |
| 25 v3 | V3 領域 | 190615 |
| 04 v3 | V3 領域 | 189167 |
| 40 v3 | V3 領域 | 179787 |
| 07 v3 | V3 領域 | 176742 |

表 7 は、ヘモフィルス・インフルエンザ（微生物 ID 03）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 7 の結果から、ヘモフィルス・インフルエンザは、プローブ 03 v2、03 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 03 v1、01 v1、v2 プローブでは 03 v2、v3 プローブでは 03 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたヘモフィルス・インフルエンザであると検出・同定することができる。

表 7

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 03 v1 | V1 領域 | 2378623 |
| 01 v1 | V1 領域 | 1906842 |
| 47 v1 | V1 領域 | 1016080 |
| 41 v1 | V1 領域 | 859149 |
| 42 v1 | V1 領域 | 829649 |
| 05 v1 | V1 領域 | 741202 |
| 24 v1 | V1 領域 | 670298 |
| 13 v1 | V1 領域 | 657089 |
| 29 v1 | V1 領域 | 569133 |
| 18_45 v1 | V1 領域 | 563785 |
| 03 v2 | V2 領域 | 17021408 |
| 01 v2 | V2 領域 | 1131659 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 488172 |
| 23 v2 | V2 領域 | 467092 |
| 04 v2 | V2 領域 | 456739 |
| 49 v2 | V2 領域 | 450377 |
| 24 v2 | V2 領域 | 447638 |
| 33 v2 | V2 領域 | 444928 |
| 07 v2 | V2 領域 | 444421 |
| 26 v2 | V2 領域 | 444320 |
| 03 v3 | V3 領域 | 34956972 |
| 01 v3 | V3 領域 | 7686990 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 992698 |
| 33 v3 | V3 領域 | 930101 |
| 25 v3 | V3 領域 | 851733 |
| 50 v3 | V3 領域 | 585611 |
| 47 v3 | V3 領域 | 565322 |
| 48 v3 | V3 領域 | 552483 |
| 05 v3 | V3 領域 | 459296 |
| 37 v3 | V3 領域 | 458129 |

表 8 は、ステノトロフォモナス・マルトフィリア（微生物 ID 04）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 8 の結果から、ステノトロフォモナス・マルトフィリアは、プローブ 04 v1、04 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 04 v1、v2 プローブでは 04 v2、02 v2、v3 プローブでは 04 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたステノトロフォモナス・マルトフィリアであると検出・同定することができる。

表 8

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 04 v1 | V1 領域 | 10553679 |
| 36 v1 | V1 領域 | 466306 |
| 55 v1 | V1 領域 | 418442 |
| 52 v1 | V1 領域 | 399038 |
| 56 v1 | V1 領域 | 392406 |
| 53 v1 | V1 領域 | 385465 |
| 11 v1 | V1 領域 | 350646 |
| 39 v1 | V1 領域 | 345370 |
| 54 v1 | V1 領域 | 340987 |
| 38 v1 | V1 領域 | 325138 |
| 04 v2 | V2 領域 | 10010827 |
| 02 v2 | V2 領域 | 9289489 |
| 07 v2 | V2 領域 | 1682837 |
| 40 v2 | V2 領域 | 1168392 |
| 36 v2 | V2 領域 | 1016436 |
| 05 v2 | V2 領域 | 547876 |
| 11 v2 | V2 領域 | 393560 |
| 19 v2 | V2 領域 | 293886 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 286031 |
| 24 v2 | V2 領域 | 276338 |
| 04 v3 | V3 領域 | 17018787 |
| 32 v3 | V3 領域 | 318622 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 294460 |
| 05 v3 | V3 領域 | 273603 |
| 36 v3 | V3 領域 | 156275 |
| 21 v3 | V3 領域 | 153557 |
| 25 v3 | V3 領域 | 148719 |
| 51 v3 | V3 領域 | 144205 |
| 48 v3 | V3 領域 | 143748 |
| 28 v3 | V3 領域 | 142935 |

表 9 は、プロテウス・ミラビリス（微生物 ID 05）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 9 の結果から、プロテウス・ミラビリスは、プローブ 05 v2 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 05 v1、01 v1、v2 プローブでは 05 v2、v3 プローブでは 05 v3、45 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたプロテウス・ミラビリスであると検出・同定することができる。

表 9

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 05 v1 | V1 領域 | 20827926 |
| 01 v1 | V1 領域 | 15475009 |
| 13 v1 | V1 領域 | 9362993 |
| 10 v1 | V1 領域 | 7681042 |
| 03 v1 | V1 領域 | 7004544 |
| 22 v1 | V1 領域 | 3735229 |
| 07 v1 | V1 領域 | 2610601 |
| 24 v1 | V1 領域 | 2389560 |
| 20 v1 | V1 領域 | 2128154 |
| 47 v1 | V1 領域 | 1946520 |
| 05 v2 | V2 領域 | 40877654 |
| 04 v2 | V2 領域 | 4549427 |
| 10 v2 | V2 領域 | 3936746 |
| 02 v2 | V2 領域 | 2747031 |
| 13 v2 | V2 領域 | 1756674 |
| 25 v2 | V2 領域 | 1579401 |
| 07 v2 | V2 領域 | 1459845 |
| 11 v2 | V2 領域 | 1214739 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 1008826 |
| 19 v2 | V2 領域 | 965000 |
| 05 v3 | V3 領域 | 35771120 |
| 45 v3 | V3 領域 | 16469087 |
| 25 v3 | V3 領域 | 4041990 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 3949284 |
| 24 v3 | V3 領域 | 1675672 |
| 19 v3 | V3 領域 | 1537185 |
| 13 v3 | V3 領域 | 1386238 |
| 22 v3 | V3 領域 | 1287333 |
| 09 v3 | V3 領域 | 902008 |
| 28 v3 | V3 領域 | 847886 |

表 10 は、ストレプトコッカス・ニューモニエ（微生物 ID 06）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 10 の結果から、ストレプトコッカス・ニューモニエは、プローブ 06 v1～06 v3 の単独使用により同定はできなかった。しかしながら、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断すると、v1 プローブでは 06 v1、29 v1、v2 プローブでは 06 v2、29 v2、v3 プローブでは 06_29_34 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたストレプトコッカス・ニューモニエであると検出・同定することができる。

表 10

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|-------------|-------|----------|
| 06 v1 | V1 領域 | 32776982 |
| 29 v1 | V1 領域 | 24913740 |
| 28 v1 | V1 領域 | 3110079 |
| 50 v1 | V1 領域 | 1357875 |
| 49 v1 | V1 領域 | 1340127 |
| 44 v1 | V1 領域 | 1236456 |
| 56 v1 | V1 領域 | 1130233 |
| 34 v1 | V1 領域 | 1113826 |
| 09 v1 | V1 領域 | 1051008 |
| 12 v1 | V1 領域 | 1028524 |
| 06 v2 | V2 領域 | 16260350 |
| 29 v2 | V2 領域 | 12945967 |
| 49 v2 | V2 領域 | 2105404 |
| 34 v2 | V2 領域 | 1956232 |
| 04 v2 | V2 領域 | 1679713 |
| 40 v2 | V2 領域 | 1628915 |
| 36 v2 | V2 領域 | 1375584 |
| 47 v2 | V2 領域 | 1324113 |
| 13 v2 | V2 領域 | 1149926 |
| 11 v2 | V2 領域 | 1147775 |
| 06_29_34 v3 | V3 領域 | 8779509 |
| 28 v3 | V3 領域 | 3711672 |
| 23_28 v3 | V3 領域 | 3321379 |
| 21 v3 | V3 領域 | 2636024 |
| 49 v3 | V3 領域 | 1168139 |
| 32 v3 | V3 領域 | 1070569 |
| 43 v3 | V3 領域 | 987691 |
| 44 v3 | V3 領域 | 773228 |
| 12 v3 | V3 領域 | 654725 |
| 37 v3 | V3 領域 | 567160 |

表 11 は、シュードモナス・エルギノサ（微生物 ID 07）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 11 の結果から、シュードモナス・エルギノサは、プローブ 07 v1、07 v2、07 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 07 v1、v2 プローブでは 07 v2、v3 プローブでは 07 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたシュードモナス・エルギノサであると検出・同定することができる。

表 11

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|-------------|-------|----------|
| 07 v1 | V1 領域 | 21582444 |
| 35 v1 | V1 領域 | 1140158 |
| 31 v1 | V1 領域 | 1069940 |
| 50 v1 | V1 領域 | 1047192 |
| 15 v1 | V1 領域 | 1017726 |
| 14 v1 | V1 領域 | 971673 |
| 02 v1 | V1 領域 | 955063 |
| 13 v1 | V1 領域 | 916576 |
| 17 v1 | V1 領域 | 897631 |
| 20 v1 | V1 領域 | 872552 |
| 07 v2 | V2 領域 | 8962135 |
| 36 v2 | V2 領域 | 2597328 |
| 04 v2 | V2 領域 | 1886057 |
| 29 v2 | V2 領域 | 1688042 |
| 11 v2 | V2 領域 | 1565487 |
| 24 v2 | V2 領域 | 1410365 |
| 02 v2 | V2 領域 | 1142371 |
| 19 v2 | V2 領域 | 1000455 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 934199 |
| 40 v2 | V2 領域 | 814738 |
| 07 v3 | V3 領域 | 7269868 |
| 40 v3 | V3 領域 | 784278 |
| 37 v3 | V3 領域 | 524732 |
| 24 v3 | V3 領域 | 488503 |
| 13 v3 | V3 領域 | 469384 |
| 32 v3 | V3 領域 | 438322 |
| 05 v3 | V3 領域 | 408564 |
| 45 v3 | V3 領域 | 404611 |
| 31 v3 | V3 領域 | 388594 |
| 06_29_34 v3 | V3 領域 | 387010 |

表 12 は、シトロバクター・フレンディ（微生物 ID 08）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 12 の結果から、シトロバクター・フレンディは、プローブ 08 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 08 v1、18_45 v1、v2 プローブでは 41_42 v2、08_18_22_45 v2、24 v2、19 v2、v3 プローブでは 08 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたシトロバクター・フレンディであると検出・同定することができる。

表 12

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 08 v1 | V1 領域 | 12042247 |
| 18_45 v1 | V1 領域 | 8702122 |
| 01 v1 | V1 領域 | 1482998 |
| 52 v1 | V1 領域 | 1481121 |
| 04 v1 | V1 領域 | 1387682 |
| 53 v1 | V1 領域 | 1311987 |
| 36 v1 | V1 領域 | 1234712 |
| 42 v1 | V1 領域 | 1180221 |
| 41 v1 | V1 領域 | 1180112 |
| 56 v1 | V1 領域 | 1078698 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 24978187 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 20819098 |
| 24 v2 | V2 領域 | 16861254 |
| 19 v2 | V2 領域 | 12857791 |
| 25 v2 | V2 領域 | 7169295 |
| 11 v2 | V2 領域 | 2316184 |
| 40 v2 | V2 領域 | 1966698 |
| 36 v2 | V2 領域 | 1305178 |
| 10 v2 | V2 領域 | 1201810 |
| 13 v2 | V2 領域 | 981693 |
| 08 v3 | V3 領域 | 31353656 |
| 19 v3 | V3 領域 | 10317886 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 8251997 |
| 25 v3 | V3 領域 | 3888031 |
| 10 v3 | V3 領域 | 2857964 |
| 22 v3 | V3 領域 | 1232473 |
| 45 v3 | V3 領域 | 970905 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 905069 |
| 02 v3 | V3 領域 | 859252 |
| 13 v3 | V3 領域 | 597583 |

表 13 は、ベイヨネラ・パルブーラ（微生物 ID 09）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 13 の結果から、ベイヨネラ・パルブーラは、プローブ 09 v1、09 v2、09 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 09 v1、v2 プローブでは 09 v2、v3 プローブでは 09 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたベイヨネラ・パルブーラであると検出・同定することができる。

表 13

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|-------------|-------|----------|
| 09 v1 | V1 領域 | 11262606 |
| 39 v1 | V1 領域 | 1525696 |
| 38 v1 | V1 領域 | 1386804 |
| 31 v1 | V1 領域 | 1279271 |
| 52 v1 | V1 領域 | 1273860 |
| 36 v1 | V1 領域 | 1201348 |
| 27 v1 | V1 領域 | 1175722 |
| 53 v1 | V1 領域 | 1154955 |
| 11 v1 | V1 領域 | 1154121 |
| 50 v1 | V1 領域 | 1087600 |
| 09 v2 | V2 領域 | 4576479 |
| 36 v2 | V2 領域 | 1594541 |
| 11 v2 | V2 領域 | 1457529 |
| 07 v2 | V2 領域 | 1312259 |
| 49 v2 | V2 領域 | 1052090 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 1040564 |
| 04 v2 | V2 領域 | 1024936 |
| 24 v2 | V2 領域 | 1011879 |
| 40 v2 | V2 領域 | 998230 |
| 13 v2 | V2 領域 | 963780 |
| 09 v3 | V3 領域 | 5145378 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 841703 |
| 32 v3 | V3 領域 | 770670 |
| 11 v3 | V3 領域 | 724183 |
| 06_29_34 v3 | V3 領域 | 701800 |
| 52_55 v3 | V3 領域 | 692188 |
| 31 v3 | V3 領域 | 691998 |
| 22 v3 | V3 領域 | 683726 |
| 37 v3 | V3 領域 | 679404 |
| 13 v3 | V3 領域 | 678675 |

表 14 は、プロビデンシア・スチュアーティ（微生物 ID 10）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 14 の結果から、プロビデンシア・スチュアーティは、プローブ 10 v1、10 v2、10 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 10 v1、13_v1、v2 プローブでは 10 v2、v3 プローブでは 10 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたプロビデンシア・スチュアーティであると検出・同定することができる。

表 14

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 10 v1 | V1 領域 | 7987691 |
| 13 v1 | V1 領域 | 5972673 |
| 05 v1 | V1 領域 | 1197313 |
| 22 v1 | V1 領域 | 1076876 |
| 07 v1 | V1 領域 | 986987 |
| 19_25 v1 | V1 領域 | 907682 |
| 20 v1 | V1 領域 | 829768 |
| 04 v1 | V1 領域 | 788987 |
| 40 v1 | V1 領域 | 787867 |
| 01 v1 | V1 領域 | 781687 |
| 10 v2 | V2 領域 | 14879362 |
| 11 v2 | V2 領域 | 2737726 |
| 40 v2 | V2 領域 | 2233598 |
| 51 v2 | V2 領域 | 1483104 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 947619 |
| 19 v2 | V2 領域 | 879936 |
| 25 v2 | V2 領域 | 877404 |
| 36 v2 | V2 領域 | 839596 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 693910 |
| 02 v2 | V2 領域 | 693016 |
| 10 v3 | V3 領域 | 25810166 |
| 45 v3 | V3 領域 | 765859 |
| 25 v3 | V3 領域 | 760872 |
| 13 v3 | V3 領域 | 755829 |
| 19 v3 | V3 領域 | 668770 |
| 08 v3 | V3 領域 | 596139 |
| 49 v3 | V3 領域 | 538412 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 514935 |
| 05 v3 | V3 領域 | 470843 |
| 26 v3 | V3 領域 | 464401 |

表 15 は、ナイセリア・ゴノローエ（微生物 ID 11）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 15 の結果から、ナイセリア・ゴノローエは、プローブ 11 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 11 v1、36 v1、v2 プローブでは 11 v2、36 v2、v3 プローブでは 11 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたナイセリア・ゴノローエであると検出・同定することができる。

表 15

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 11 v1 | V1 領域 | 26218769 |
| 36 v1 | V1 領域 | 20136531 |
| 04 v1 | V1 領域 | 1148687 |
| 17 v1 | V1 領域 | 1123692 |
| 56 v1 | V1 領域 | 795876 |
| 53 v1 | V1 領域 | 709876 |
| 54 v1 | V1 領域 | 658782 |
| 52 v1 | V1 領域 | 647787 |
| 53 v1 | V1 領域 | 638967 |
| 18_45 v1 | V1 領域 | 629876 |
| 11 v2 | V2 領域 | 30109876 |
| 36 v2 | V2 領域 | 23409746 |
| 40 v2 | V2 領域 | 3997698 |
| 51 v2 | V2 領域 | 2598790 |
| 10 v2 | V2 領域 | 1207098 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 1027869 |
| 07 v2 | V2 領域 | 1011769 |
| 19 v2 | V2 領域 | 908763 |
| 04 v2 | V2 領域 | 792340 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 748769 |
| 11 v3 | V3 領域 | 18694137 |
| 36 v3 | V3 領域 | 884298 |
| 07 v3 | V3 領域 | 390902 |
| 39 v3 | V3 領域 | 387087 |
| 25 v3 | V3 領域 | 378093 |
| 46 v3 | V3 領域 | 375906 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 374803 |
| 45 v3 | V3 領域 | 370866 |
| 15 v3 | V3 領域 | 367255 |
| 13 v3 | V3 領域 | 365979 |

表 16 は、ストレプトコッカス・アガラクチエ（微生物 ID 12）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 16 の結果から、ストレプトコッカス・アガラクチエは、プローブ 12 v1、12 v2、12 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 12 v1、v2 プローブでは 12 v2、v3 プローブでは 12 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたストレプトコッカス・アガラクチエであると検出・同定することができる。

表 16

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 12 v1 | V1 領域 | 44947674 |
| 06 v1 | V1 領域 | 3873241 |
| 34 v1 | V1 領域 | 2703603 |
| 29 v1 | V1 領域 | 2651862 |
| 44 v1 | V1 領域 | 2623306 |
| 43 v1 | V1 領域 | 2484804 |
| 49 v1 | V1 領域 | 1889335 |
| 28 v1 | V1 領域 | 1818534 |
| 21_28 v1 | V1 領域 | 1810848 |
| 01 v1 | V1 領域 | 1490870 |
| 12 v2 | V2 領域 | 30700769 |
| 49 v2 | V2 領域 | 6918627 |
| 19 v2 | V2 領域 | 3579300 |
| 06 v2 | V2 領域 | 3512292 |
| 24 v2 | V2 領域 | 3464250 |
| 29 v2 | V2 領域 | 3287064 |
| 07 v2 | V2 領域 | 3106369 |
| 25 v2 | V2 領域 | 3007513 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 2691057 |
| 34 v2 | V2 領域 | 2579428 |
| 12 v3 | V3 領域 | 53581492 |
| 49 v3 | V3 領域 | 8548413 |
| 43 v3 | V3 領域 | 6200222 |
| 44 v3 | V3 領域 | 3240147 |
| 27 v3 | V3 領域 | 2352093 |
| 39 v3 | V3 領域 | 2291647 |
| 38 v3 | V3 領域 | 2219299 |
| 32 v3 | V3 領域 | 1785051 |
| 21 v3 | V3 領域 | 1329525 |
| 06_29_34 v3 | V3 領域 | 1211039 |

表 17 は、モルガネラ・モルガニ（微生物 ID 13）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 17 の結果から、モルガネラ・モルガニは、プローブ 13 v2、13 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 13 v1、10 v1、v2 プローブでは 13 v2、v3 プローブでは 13 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたモルガネラ・モルガニであると検出・同定することができる。

表 17

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 13 v1 | V1 領域 | 28976987 |
| 10 v1 | V1 領域 | 20876298 |
| 05 v1 | V1 領域 | 5987986 |
| 22 v1 | V1 領域 | 2376987 |
| 07 v1 | V1 領域 | 1187687 |
| 20 v1 | V1 領域 | 1176876 |
| 17 v1 | V1 領域 | 1089768 |
| 35 v1 | V1 領域 | 997987 |
| 14 v1 | V1 領域 | 949879 |
| 16_46 v1 | V1 領域 | 893987 |
| 13 v2 | V2 領域 | 20920924 |
| 10 v2 | V2 領域 | 2053932 |
| 25 v2 | V2 領域 | 1500548 |
| 19 v2 | V2 領域 | 1021487 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 1001221 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 902148 |
| 36 v2 | V2 領域 | 803154 |
| 04 v2 | V2 領域 | 728878 |
| 11 v2 | V2 領域 | 700703 |
| 24 v2 | V2 領域 | 699761 |
| 13 v3 | V3 領域 | 14425456 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 1160989 |
| 10 v3 | V3 領域 | 1102065 |
| 19 v3 | V3 領域 | 1092044 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 856732 |
| 05 v3 | V3 領域 | 823358 |
| 45 v3 | V3 領域 | 470306 |
| 08 v3 | V3 領域 | 454786 |
| 50 v3 | V3 領域 | 386009 |
| 52_55 v3 | V3 領域 | 370832 |

表 18 は、バクテロイデス・フラジリス（微生物 ID 14）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 18 の結果から、バクテロイデス・フラジリスは、プローブ 14 v1、14 v2、14 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 14 v1、v2 プローブでは 14 v2、v3 プローブでは 14 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたバクテロイデス・フラジリスであると検出・同定することができる。

表 18

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 14 v1 | V1 領域 | 26790920 |
| 47 v1 | V1 領域 | 1187411 |
| 05 v1 | V1 領域 | 527363 |
| 36 v1 | V1 領域 | 507633 |
| 22 v1 | V1 領域 | 485571 |
| 13 v1 | V1 領域 | 452603 |
| 50 v1 | V1 領域 | 414464 |
| 20 v1 | V1 領域 | 391619 |
| 07 v1 | V1 領域 | 383929 |
| 37 v1 | V1 領域 | 383808 |
| 14 v2 | V2 領域 | 21293063 |
| 25 v2 | V2 領域 | 629025 |
| 19 v2 | V2 領域 | 606147 |
| 07 v2 | V2 領域 | 360263 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 289452 |
| 15 v2 | V2 領域 | 288112 |
| 54 v2 | V2 領域 | 282965 |
| 16 v2 | V2 領域 | 281543 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 278321 |
| 50 v2 | V2 領域 | 277973 |
| 14 v3 | V3 領域 | 17838095 |
| 37 v3 | V3 領域 | 301773 |
| 25 v3 | V3 領域 | 283236 |
| 16 v3 | V3 領域 | 279815 |
| 51 v3 | V3 領域 | 275369 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 268313 |
| 50 v3 | V3 領域 | 267447 |
| 13 v3 | V3 領域 | 264208 |
| 56 v3 | V3 領域 | 263492 |
| 08 v3 | V3 領域 | 263058 |

表 19 は、スタフィロコッカス・ホミニス（微生物 ID 15）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 19 の結果から、スタフィロコッカス・ホミニスは、プローブ 15 v1～15 v3 の単独使用により検出、同定することができなかったが、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断すると、v1 プローブでは 16_46 v1、15 v1、17 v1、v2 プローブでは 15 v2、16 v2、v3 プローブでは 15 v3、16 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたスタフィロコッカス・ホミニスもしくはスタフィロコッカス・ワルネリの存在が示唆された。

表 19

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 16_46 v1 | V1 領域 | 9636297 |
| 15 v1 | V1 領域 | 8688319 |
| 17 v1 | V1 領域 | 7822648 |
| 20 v1 | V1 領域 | 2690099 |
| 35 v1 | V1 領域 | 756910 |
| 53 v1 | V1 領域 | 499825 |
| 02 v1 | V1 領域 | 451079 |
| 07 v1 | V1 領域 | 412397 |
| 32 v1 | V1 領域 | 395656 |
| 13 v1 | V1 領域 | 377834 |
| 15 v2 | V2 領域 | 8187686 |
| 16 v2 | V2 領域 | 7896897 |
| 35 v2 | V2 領域 | 1897098 |
| 20 v2 | V2 領域 | 987973 |
| 56 v2 | V2 領域 | 398768 |
| 46 v2 | V2 領域 | 298767 |
| 02 v2 | V2 領域 | 208768 |
| 50 v2 | V2 領域 | 201767 |
| 07 v2 | V2 領域 | 198769 |
| 31 v2 | V2 領域 | 188678 |
| 15 v3 | V3 領域 | 12898732 |
| 16 v3 | V3 領域 | 11866243 |
| 35 v3 | V3 領域 | 4776521 |
| 20 v3 | V3 領域 | 886287 |
| 46 v3 | V3 領域 | 517652 |
| 17 v3 | V3 領域 | 418761 |
| 04 v3 | V3 領域 | 239766 |
| 32 v3 | V3 領域 | 221876 |
| 36 v3 | V3 領域 | 198767 |
| 37 v3 | V3 領域 | 191852 |

表 20 は、スタフィロコッカス・ワルネリ（微生物 ID 16）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 20 の結果から、スタフィロコッカス・ワルネリは、プローブ 16 v1～16 v3 の単独使用により同定はできなかったが、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断すると、v1 プローブでは 16_46 v1、15 v1、17 v1、v2 プローブでは 16 v2、35 v2、v3 プローブでは 16 v3、35 v3、15 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたスタフィロコッカス・ワルネリの検出・同定が可能であった。

表 20

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 16_46 v1 | V1 領域 | 12218165 |
| 15 v1 | V1 領域 | 10730234 |
| 17 v1 | V1 領域 | 10255526 |
| 20 v1 | V1 領域 | 3853200 |
| 07 v1 | V1 領域 | 1431817 |
| 02 v1 | V1 領域 | 1404253 |
| 35 v1 | V1 領域 | 1231964 |
| 22 v1 | V1 領域 | 1205675 |
| 13 v1 | V1 領域 | 1077816 |
| 50 v1 | V1 領域 | 1004618 |
| 16 v2 | V2 領域 | 4960969 |
| 35 v2 | V2 領域 | 3516006 |
| 20 v2 | V2 領域 | 1151056 |
| 46 v2 | V2 領域 | 508899 |
| 15 v2 | V2 領域 | 375549 |
| 38_39 v2 | V2 領域 | 280287 |
| 50 v2 | V2 領域 | 272678 |
| 17 v2 | V2 領域 | 248168 |
| 04 v2 | V2 領域 | 221243 |
| 27 v2 | V2 領域 | 216260 |
| 16 v3 | V3 領域 | 8009052 |
| 35 v3 | V3 領域 | 4977219 |
| 15 v3 | V3 領域 | 3067127 |
| 20 v3 | V3 領域 | 2269730 |
| 46 v3 | V3 領域 | 1633000 |
| 17 v3 | V3 領域 | 1125631 |
| 04 v3 | V3 領域 | 858224 |
| 32 v3 | V3 領域 | 537561 |
| 14 v3 | V3 領域 | 310394 |
| 36 v3 | V3 領域 | 294464 |

表 21 は、スタフィロコッカス・ヘモリティカス（微生物 ID 17）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 21 の結果から、スタフィロコッカス・ヘモリティカスは、プローブ 17 v1～17 v3 の単独使用により同定はできなかったが、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断すると、v1 プローブでは 17 v1、15 v1、16_46 v1、v2 プローブでは 17 v2、15 v2、v3 プローブでは 17 v3、20 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたスタフィロコッカス・ヘモリティカスであると検出・同定することができた。

表 21

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 17 v1 | V1 領域 | 9140975 |
| 15 v1 | V1 領域 | 9067760 |
| 16_46 v1 | V1 領域 | 6804271 |
| 20 v1 | V1 領域 | 1905673 |
| 50 v1 | V1 領域 | 1064254 |
| 02 v1 | V1 領域 | 995094 |
| 35 v1 | V1 領域 | 854346 |
| 31 v1 | V1 領域 | 835559 |
| 13 v1 | V1 領域 | 807708 |
| 07 v1 | V1 領域 | 713656 |
| 17 v2 | V2 領域 | 2983744 |
| 15 v2 | V2 領域 | 2442856 |
| 35 v2 | V2 領域 | 857752 |
| 46 v2 | V2 領域 | 820022 |
| 20 v2 | V2 領域 | 536312 |
| 16 v2 | V2 領域 | 337042 |
| 03 v2 | V2 領域 | 289615 |
| 38_39 v2 | V2 領域 | 237405 |
| 19 v2 | V2 領域 | 230281 |
| 04 v2 | V2 領域 | 225625 |
| 17 v3 | V3 領域 | 4176321 |
| 20 v3 | V3 領域 | 2798760 |
| 15 v3 | V3 領域 | 1197281 |
| 46 v3 | V3 領域 | 1119872 |
| 35 v3 | V3 領域 | 1022122 |
| 16 v3 | V3 領域 | 796758 |
| 32 v3 | V3 領域 | 567851 |
| 37 v3 | V3 領域 | 396112 |
| 14 v3 | V3 領域 | 289868 |
| 22 v3 | V3 領域 | 217865 |

表 22 は、エンテロバクター・クロアカ（微生物 ID 18）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 22 の結果から、エンテロバクター・クロアカは、プローブ 18 v1、18 v2、18 v3 の単独使用により同定はできなかったが、v1、v2、v3 プローブの組合せを総合的に考えた場合、v1 プローブでは 18_45 v1、v2 プローブでは 08_18_22_45 v2、41_42 v2、24 v2、v3 プローブでは 18_41_42 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたエンテロバクター・クロアカであると検出・同定することができた。

表 22

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 18_45 v1 | V1 領域 | 24178609 |
| 19_25 v1 | V1 領域 | 10966958 |
| 08 v1 | V1 領域 | 3226628 |
| 56 v1 | V1 領域 | 2249984 |
| 55 v1 | V1 領域 | 1955213 |
| 52 v1 | V1 領域 | 1825328 |
| 53 v1 | V1 領域 | 1746709 |
| 36 v1 | V1 領域 | 1714315 |
| 01 v1 | V1 領域 | 1658325 |
| 04 v1 | V1 領域 | 1634919 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 34967588 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 26612959 |
| 24 v2 | V2 領域 | 22463213 |
| 25 v2 | V2 領域 | 16145401 |
| 19 v2 | V2 領域 | 16030188 |
| 11 v2 | V2 領域 | 3678267 |
| 40 v2 | V2 領域 | 2477658 |
| 51 v2 | V2 領域 | 2156539 |
| 36 v2 | V2 領域 | 2094885 |
| 13 v2 | V2 領域 | 2021289 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 58668243 |
| 08 v3 | V3 領域 | 12496515 |
| 05 v3 | V3 領域 | 5472813 |
| 25 v3 | V3 領域 | 5283913 |
| 13 v3 | V3 領域 | 3228907 |
| 45 v3 | V3 領域 | 2914331 |
| 24 v3 | V3 領域 | 2546582 |
| 22 v3 | V3 領域 | 1839215 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 1434928 |
| 19 v3 | V3 領域 | 1238023 |

表 23 は、エンテロバクター・アエロゲネス（微生物 ID 19）の 16S rRNA の V1 ～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 23 の結果から、エンテロバクター・アエロゲネスは、プローブ 19 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 19_25 v1、v2 プローブでは 19 v2、08_18_22_45 v2、v3 プローブでは 19 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたエンテロバクター・アエロゲネスであると検出・同定することができる。

表 23

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 19_25 v1 | V1 領域 | 28812260 |
| 18_45 v1 | V1 領域 | 9383804 |
| 05 v1 | V1 領域 | 2187459 |
| 13 v1 | V1 領域 | 1854417 |
| 22 v1 | V1 領域 | 1802189 |
| 14 v1 | V1 領域 | 1390057 |
| 07 v1 | V1 領域 | 1316013 |
| 20 v1 | V1 領域 | 1235029 |
| 10 v1 | V1 領域 | 1210090 |
| 32 v1 | V1 領域 | 1158607 |
| 19 v2 | V2 領域 | 38919738 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 24987198 |
| 25 v2 | V2 領域 | 13987281 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 12981961 |
| 24 v2 | V2 領域 | 11964021 |
| 11 v2 | V2 領域 | 1890122 |
| 07 v2 | V2 領域 | 1825411 |
| 36 v2 | V2 領域 | 1487611 |
| 40 v2 | V2 領域 | 1298731 |
| 13 v2 | V2 領域 | 1016732 |
| 19 v3 | V3 領域 | 53121093 |
| 08 v3 | V3 領域 | 10985176 |
| 45 v3 | V3 領域 | 8292437 |
| 25 v3 | V3 領域 | 2575095 |
| 05 v3 | V3 領域 | 1383349 |
| 13 v3 | V3 領域 | 1288969 |
| 11 v3 | V3 領域 | 1268765 |
| 22 v3 | V3 領域 | 1245965 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 1200845 |
| 10 v3 | V3 領域 | 1152808 |

表 24 は、スタフィロコッカス・エピデルミデイス（微生物 ID 20）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 24 の結果から、スタフィロコッカス・エピデルミデイスは、プローブ 20 v1、20 v2、20 v3 の単独使用により同定はできなかったが、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断すると、v1 プローブでは 20 v1、15 v1、v2 プローブでは 20 v2、35 v2、17 v2、v3 プローブでは 20 v3、46 v3、17 v3、16 v3、15 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたスタフィロコッカス・エピデルミデイスであると検出・同定することができる。

表 24

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 20 v1 | V1 領域 | 5564151 |
| 15 v1 | V1 領域 | 4297641 |
| 13 v1 | V1 領域 | 2298763 |
| 50 v1 | V1 領域 | 2276511 |
| 17 v1 | V1 領域 | 2192611 |
| 16.46 v1 | V1 領域 | 2017652 |
| 14 v1 | V1 領域 | 2012511 |
| 31 v1 | V1 領域 | 1918761 |
| 02 v1 | V1 領域 | 1876181 |
| 32 v1 | V1 領域 | 1586519 |
| 20 v2 | V2 領域 | 3711401 |
| 35 v2 | V2 領域 | 3544303 |
| 17 v2 | V2 領域 | 2252854 |
| 16 v2 | V2 領域 | 1447884 |
| 46 v2 | V2 領域 | 1188084 |
| 15 v2 | V2 領域 | 1179760 |
| 56 v2 | V2 領域 | 750663 |
| 04 v2 | V2 領域 | 587370 |
| 32 v2 | V2 領域 | 554422 |
| 52 v2 | V2 領域 | 550275 |
| 20 v3 | V3 領域 | 8696647 |
| 46 v3 | V3 領域 | 5234071 |
| 17 v3 | V3 領域 | 5181402 |
| 16 v3 | V3 領域 | 4043267 |
| 15 v3 | V3 領域 | 3725666 |
| 35 v3 | V3 領域 | 2211902 |
| 37 v3 | V3 領域 | 1747232 |
| 32 v3 | V3 領域 | 1455263 |
| 36 v3 | V3 領域 | 859988 |
| 14 v3 | V3 領域 | 759021 |

表 25 は、ストレプトコッカス・コンステラータス（微生物 ID 21）の 16S rRNA の領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 25 の結果から、ストレプトコッカス・コンステラータスは、プローブ 21 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 21_30 v1、v2 プローブでは 30 v2、21 v2、v3 プローブでは 21 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたストレプトコッカス・コンステラータスであると検出・同定することができる。

表 25

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|-------------|-------|----------|
| 21_30 v1 | V1 領域 | 13493205 |
| 49 v1 | V1 領域 | 626462 |
| 14 v1 | V1 領域 | 472249 |
| 28 v1 | V1 領域 | 406692 |
| 09 v1 | V1 領域 | 372127 |
| 23 v1 | V1 領域 | 334462 |
| 04 v1 | V1 領域 | 281259 |
| 39 v1 | V1 領域 | 264440 |
| 33 v1 | V1 領域 | 261432 |
| 44 v1 | V1 領域 | 231431 |
| 30 v2 | V2 領域 | 40001310 |
| 21 v2 | V2 領域 | 37777213 |
| 36 v2 | V2 領域 | 442244 |
| 13 v2 | V2 領域 | 435228 |
| 04 v2 | V2 領域 | 434745 |
| 25 v2 | V2 領域 | 405090 |
| 11 v2 | V2 領域 | 389678 |
| 19 v2 | V2 領域 | 386999 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 365454 |
| 23 v2 | V2 領域 | 362880 |
| 21 v3 | V3 領域 | 48491419 |
| 06_29_34 v3 | V3 領域 | 16236812 |
| 28 v3 | V3 領域 | 10188066 |
| 23_30 v3 | V3 領域 | 1704489 |
| 32 v3 | V3 領域 | 501471 |
| 33 v3 | V3 領域 | 255113 |
| 49 v3 | V3 領域 | 240367 |
| 04 v3 | V3 領域 | 221273 |
| 12 v3 | V3 領域 | 216686 |
| 44 v3 | V3 領域 | 215405 |

表 26 は、セラチア・マルセッセンス（微生物 ID 22）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 26 の結果から、セラチア・マルセッセンスは、プローブ 22 v1、22 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 22 v1、v2 プローブでは 08_18_22_45 v2、v3 プローブでは 22 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたセラチア・マルセッセンスであると検出・同定することができる。

表 26

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 22 v1 | V1 領域 | 2799986 |
| 19_25 v1 | V1 領域 | 645042 |
| 05 v1 | V1 領域 | 464262 |
| 14 v1 | V1 領域 | 403849 |
| 13 v1 | V1 領域 | 348639 |
| 10 v1 | V1 領域 | 340365 |
| 08 v1 | V1 領域 | 334770 |
| 56 v1 | V1 領域 | 329794 |
| 07 v1 | V1 領域 | 319945 |
| 20 v1 | V1 領域 | 301988 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 8881924 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 3611108 |
| 19 v2 | V2 領域 | 3501442 |
| 24 v2 | V2 領域 | 3388138 |
| 25 v2 | V2 領域 | 1364269 |
| 36 v2 | V2 領域 | 440534 |
| 11 v2 | V2 領域 | 437523 |
| 10 v2 | V2 領域 | 351575 |
| 07 v2 | V2 領域 | 333596 |
| 13 v2 | V2 領域 | 330089 |
| 22 v3 | V3 領域 | 4336423 |
| 25 v3 | V3 領域 | 552973 |
| 19 v3 | V3 領域 | 376449 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 370767 |
| 05 v3 | V3 領域 | 359246 |
| 08 v3 | V3 領域 | 317135 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 251368 |
| 40 v3 | V3 領域 | 241465 |
| 02 v3 | V3 領域 | 183823 |
| 13 v3 | V3 領域 | 156441 |

表 27 は、ストレプトコッカス・アンギノサス（微生物 ID 23）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 27 の結果から、ストレプトコッカス・アンギノサスは、プローブ 23 v1、23 v2 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 23 v1、v2 プローブでは 23 v2、v3 プローブでは 23_30 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたストレプトコッカス・アンギノサスであると検出・同定することができる。

表 27

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 23 v1 | V1 領域 | 13621920 |
| 21_30 v1 | V1 領域 | 1429074 |
| 12 v1 | V1 領域 | 351954 |
| 54 v1 | V1 領域 | 322529 |
| 06 v1 | V1 領域 | 313548 |
| 29 v1 | V1 領域 | 285465 |
| 56 v1 | V1 領域 | 279073 |
| 52 v1 | V1 領域 | 277580 |
| 55 v1 | V1 領域 | 270510 |
| 53 v1 | V1 領域 | 265961 |
| 23 v2 | V2 領域 | 17801418 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 939544 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 853515 |
| 19 v2 | V2 領域 | 767853 |
| 36 v2 | V2 領域 | 678990 |
| 25 v2 | V2 領域 | 661394 |
| 24 v2 | V2 領域 | 660099 |
| 40 v2 | V2 領域 | 629656 |
| 13 v2 | V2 領域 | 614760 |
| 11 v2 | V2 領域 | 463405 |
| 23_30 v3 | V3 領域 | 34042714 |
| 06_29_34 v3 | V3 領域 | 2910169 |
| 21 v3 | V3 領域 | 2028456 |
| 28 v3 | V3 領域 | 1845357 |
| 32 v3 | V3 領域 | 1117260 |
| 25 v3 | V3 領域 | 522676 |
| 37 v3 | V3 領域 | 364237 |
| 33 v3 | V3 領域 | 281238 |
| 09 v3 | V3 領域 | 274590 |
| 43 v3 | V3 領域 | 261961 |

表 28 は、エシェリシア・コリ（微生物 ID 24）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 28 の結果から、エシェリシア・コリは、プローブ 24 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 24 v1、41 v1、v2 プローブでは 08_18_22_45 v2、24 v2、41_42 v2、v3 プローブでは 24 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたエシェリシア・コリであると検出・同定することができる。

表 28

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 24 v1 | V1 領域 | 17987542 |
| 41 v1 | V1 領域 | 15887613 |
| 42 v1 | V1 領域 | 4765198 |
| 03 v1 | V1 領域 | 2191683 |
| 01 v1 | V1 領域 | 1486217 |
| 08 v1 | V1 領域 | 1329111 |
| 56 v1 | V1 領域 | 991762 |
| 52 v1 | V1 領域 | 978628 |
| 55 v1 | V1 領域 | 987780 |
| 53 v1 | V1 領域 | 926175 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 9827911 |
| 24 v2 | V2 領域 | 9218763 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 4907915 |
| 19 v2 | V2 領域 | 3896124 |
| 25 v2 | V2 領域 | 1778622 |
| 11 v2 | V2 領域 | 598792 |
| 36 v2 | V2 領域 | 597517 |
| 10 v2 | V2 領域 | 527651 |
| 13 v2 | V2 領域 | 486981 |
| 40 v2 | V2 領域 | 479617 |
| 24 v3 | V3 領域 | 4646334 |
| 05 v3 | V3 領域 | 676154 |
| 25 v3 | V3 領域 | 614952 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 587388 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 506098 |
| 07 v3 | V3 領域 | 475754 |
| 32 v3 | V3 領域 | 435473 |
| 45 v3 | V3 領域 | 409346 |
| 13 v3 | V3 領域 | 332258 |
| 19 v3 | V3 領域 | 276499 |

表 29 は、クレブセラ・ニューモニエ（微生物 ID 25）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 29 の結果から、クレブセラ・ニューモニエは、プローブ 25 v1、25 v2、25 v3 の単独使用により同定はできなかったが、v1、v2、v3 プローブの組合せを総合的に判断すると、v1 プローブでは 19_25 v1、18_45 v1、v2 プローブでは 25 v2、19 v2、v3 プローブでは 25 v3、45 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたクレブセラ・ニューモニエであると検出・同定することができる。

表 29

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 19_25 v1 | V1 領域 | 44899827 |
| 18_45 v1 | V1 領域 | 22296940 |
| 13 v1 | V1 領域 | 5066743 |
| 05 v1 | V1 領域 | 4572823 |
| 22 v1 | V1 領域 | 3932829 |
| 10 v1 | V1 領域 | 3095199 |
| 14 v1 | V1 領域 | 2864113 |
| 07 v1 | V1 領域 | 2658302 |
| 20 v1 | V1 領域 | 2612310 |
| 32 v1 | V1 領域 | 2529941 |
| 25 v2 | V2 領域 | 56236707 |
| 19 v2 | V2 領域 | 52302190 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 22930464 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 20291404 |
| 24 v2 | V2 領域 | 15891725 |
| 07 v2 | V2 領域 | 3433724 |
| 11 v2 | V2 領域 | 3330589 |
| 13 v2 | V2 領域 | 2995258 |
| 40 v2 | V2 領域 | 2330892 |
| 36 v2 | V2 領域 | 2213813 |
| 25 v3 | V3 領域 | 44576411 |
| 45 v3 | V3 領域 | 27662864 |
| 19 v3 | V3 領域 | 13943196 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 6416896 |
| 05 v3 | V3 領域 | 6387121 |
| 08 v3 | V3 領域 | 4853371 |
| 24 v3 | V3 領域 | 2016550 |
| 10 v3 | V3 領域 | 1424743 |
| 13 v3 | V3 領域 | 1402032 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 1042800 |

表 30 は、エンテロコッカス・フェカリス（微生物 ID 26）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 30 の結果から、エンテロコッカス・フェカリスは、プローブ 26 v1、26 v2、26 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 26 v1、v2 プローブでは 26 v2、v3 プローブでは 26 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたエンテロコッカス・フェカリスであると検出・同定することができる。

表 30

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 26 v1 | V1 領域 | 6245244 |
| 50 v1 | V1 領域 | 1519767 |
| 31 v1 | V1 領域 | 997402 |
| 03 v1 | V1 領域 | 971075 |
| 08 v1 | V1 領域 | 749485 |
| 27 v1 | V1 領域 | 743405 |
| 01 v1 | V1 領域 | 683398 |
| 41 v1 | V1 領域 | 630838 |
| 07 v1 | V1 領域 | 627885 |
| 13 v1 | V1 領域 | 616087 |
| 26 v2 | V2 領域 | 6899137 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 575015 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 494906 |
| 19 v2 | V2 領域 | 492700 |
| 24 v2 | V2 領域 | 427571 |
| 36 v2 | V2 領域 | 415871 |
| 40 v2 | V2 領域 | 410203 |
| 07 v2 | V2 領域 | 381812 |
| 04 v2 | V2 領域 | 374505 |
| 25 v2 | V2 領域 | 358563 |
| 26 v3 | V3 領域 | 4672443 |
| 31 v3 | V3 領域 | 439560 |
| 27 v3 | V3 領域 | 369990 |
| 39 v3 | V3 領域 | 337964 |
| 32 v3 | V3 領域 | 330311 |
| 38 v3 | V3 領域 | 317024 |
| 37 v3 | V3 領域 | 311826 |
| 13 v3 | V3 領域 | 245796 |
| 10 v3 | V3 領域 | 213954 |
| 12 v3 | V3 領域 | 187308 |

表 31 は、エンテロコッカス・フェシウム（微生物 ID 27）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 31 の結果から、エンテロコッカス・フェシウムは、プローブ 27 v1、27 v2 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 27 v1、v2 プローブでは 27 v2、v3 プローブでは 27 v3、39 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたエンテロコッカス・フェシウムであると検出・同定することができる。

表 31

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 27 v1 | V1 領域 | 9778728 |
| 39 v1 | V1 領域 | 3061690 |
| 56 v1 | V1 領域 | 2755188 |
| 53 v1 | V1 領域 | 2721149 |
| 54 v1 | V1 領域 | 2565777 |
| 38 v1 | V1 領域 | 2549340 |
| 26 v1 | V1 領域 | 2330722 |
| 52 v1 | V1 領域 | 2263885 |
| 55 v1 | V1 領域 | 2049533 |
| 09 v1 | V1 領域 | 969809 |
| 27 v2 | V2 領域 | 9929701 |
| 46 v2 | V2 領域 | 1671138 |
| 38_39 v2 | V2 領域 | 331665 |
| 26 v2 | V2 領域 | 312678 |
| 07 v2 | V2 領域 | 278453 |
| 16 v2 | V2 領域 | 260282 |
| 04 v2 | V2 領域 | 239858 |
| 15 v2 | V2 領域 | 238161 |
| 24 v2 | V2 領域 | 235895 |
| 19 v2 | V2 領域 | 223883 |
| 27 v3 | V3 領域 | 8639767 |
| 39 v3 | V3 領域 | 7896327 |
| 38 v3 | V3 領域 | 2376811 |
| 31 v3 | V3 領域 | 1098762 |
| 44 v3 | V3 領域 | 675861 |
| 26 v3 | V3 領域 | 589761 |
| 19 v3 | V3 領域 | 318761 |
| 32 v3 | V3 領域 | 307681 |
| 05 v3 | V3 領域 | 297987 |
| 08 v3 | V3 領域 | 278768 |

表 32 は、ストレプトコッカス・サングイス（微生物 ID 28）の 16S rRNA の V1 ～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 32 の結果から、ストレプトコッカス・サングイスは、プローブ 28 v1、28 v2 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブで 28 v1、v2 プローブでは 28 v2、v3 プローブでは 28 v3、06_29_34 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたストレプトコッカス・サングイスであると検出・同定することができる。

表 32

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 28 v1 | V1 領域 | 16338885 |
| 06 v1 | V1 領域 | 1181797 |
| 29 v1 | V1 領域 | 730573 |
| 21_30 v1 | V1 領域 | 483231 |
| 34 v1 | V1 領域 | 472055 |
| 43 v1 | V1 領域 | 459749 |
| 44 v1 | V1 領域 | 404106 |
| 12 v1 | V1 領域 | 381948 |
| 49 v1 | V1 領域 | 376569 |
| 09 v1 | V1 領域 | 351832 |
| 28 v2 | V2 領域 | 12909216 |
| 24 v2 | V2 領域 | 503344 |
| 36 v2 | V2 領域 | 499619 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 431345 |
| 13 v2 | V2 領域 | 424502 |
| 19 v2 | V2 領域 | 417881 |
| 25 v2 | V2 領域 | 403362 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 395035 |
| 04 v2 | V2 領域 | 394017 |
| 11 v2 | V2 領域 | 374090 |
| 28 v3 | V3 領域 | 45542140 |
| 06_29_34 v3 | V3 領域 | 35114448 |
| 21 v3 | V3 領域 | 15435778 |
| 23_30 v3 | V3 領域 | 1521965 |
| 32 v3 | V3 領域 | 739219 |
| 24 v3 | V3 領域 | 465434 |
| 49 v3 | V3 領域 | 450890 |
| 43 v3 | V3 領域 | 427491 |
| 44 v3 | V3 領域 | 396805 |
| 01 v3 | V3 領域 | 355158 |

表 33 は、ストレプトコッカス・ミティス（微生物 ID 29）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 33 の結果から、ストレプトコッカス・ミティスは、プローブ 29 v1、29 v2、29 v3 の単独使用により同定はできなかったが、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断すると、v1 プローブでは 29 v1、28 v1、v2 プローブでは 29 v2、06 v2、v3 プローブでは 06_29_34 v3、28 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたストレプトコッカス・ミティスであると検出・同定することができる。

表 33

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 29 v1 | V1 領域 | 38198721 |
| 28 v1 | V1 領域 | 24682981 |
| 06 v1 | V1 領域 | 5817621 |
| 21_30 v1 | V1 領域 | 2119781 |
| 34 v1 | V1 領域 | 1087983 |
| 12 v1 | V1 領域 | 909878 |
| 49 v1 | V1 領域 | 687611 |
| 44 v1 | V1 領域 | 576586 |
| 43 v1 | V1 領域 | 467651 |
| 27 v1 | V1 領域 | 416581 |
| 29 v2 | V2 領域 | 46472243 |
| 06 v2 | V2 領域 | 24406385 |
| 34 v2 | V2 領域 | 12962338 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 902177 |
| 12 v2 | V2 領域 | 866635 |
| 19 v2 | V2 領域 | 849684 |
| 30 v2 | V2 領域 | 826972 |
| 25 v2 | V2 領域 | 743509 |
| 24 v2 | V2 領域 | 736106 |
| 36 v2 | V2 領域 | 669629 |
| 06_29_34 v3 | V3 領域 | 43974721 |
| 28 v3 | V3 領域 | 28728883 |
| 21 v3 | V3 領域 | 11488220 |
| 23_30 v3 | V3 領域 | 3778464 |
| 32 v3 | V3 領域 | 1193519 |
| 47 v3 | V3 領域 | 600238 |
| 12 v3 | V3 領域 | 288689 |
| 43 v3 | V3 領域 | 258797 |
| 49 v3 | V3 領域 | 253604 |
| 08 v3 | V3 領域 | 237332 |

表 34 は、ストレプトコッカス・インターメディウス（微生物 ID 30）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 34 の結果から、ストレプトコッカス・インターメディウスは、プローブ 30 v1、30 v2、30 v3 の単独使用により同定はできなかったが、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断すると、v1 プローブでは 21_30 v1、v2 プローブでは 30 v2、21 v2、v3 プローブでは 23_30 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたストレプトコッカス・インターメディウスであると検出・同定することができる。

表 34

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 21_30 v1 | V1 領域 | 17443911 |
| 23 v1 | V1 領域 | 430260 |
| 06 v1 | V1 領域 | 417406 |
| 09 v1 | V1 領域 | 411180 |
| 28 v1 | V1 領域 | 357081 |
| 29 v1 | V1 領域 | 333449 |
| 43 v1 | V1 領域 | 321388 |
| 49 v1 | V1 領域 | 295344 |
| 44 v1 | V1 領域 | 290890 |
| 39 v1 | V1 領域 | 270773 |
| 30 v2 | V2 領域 | 28660345 |
| 21 v2 | V2 領域 | 26065824 |
| 36 v2 | V2 領域 | 564178 |
| 24 v2 | V2 領域 | 552656 |
| 25 v2 | V2 領域 | 542309 |
| 19 v2 | V2 領域 | 525497 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 510266 |
| 04 v2 | V2 領域 | 509800 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 498506 |
| 49 v2 | V2 領域 | 473932 |
| 23_30 v3 | V3 領域 | 26887538 |
| 06_29_34 v3 | V3 領域 | 4386868 |
| 21 v3 | V3 領域 | 2120637 |
| 28 v3 | V3 領域 | 2097411 |
| 32 v3 | V3 領域 | 663634 |
| 25 v3 | V3 領域 | 630821 |
| 37 v3 | V3 領域 | 296965 |
| 43 v3 | V3 領域 | 243304 |
| 49 v3 | V3 領域 | 233886 |
| 27 v3 | V3 領域 | 193883 |

表 35 は、リステリア・モノサイトゲネス（微生物 ID 31）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 35 の結果から、リステリア・モノサイトゲネスは、プローブ 31 v1、31 v2、31 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 31 v1、v2 プローブでは 31 v2、v3 プローブでは 31 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたリステリア・モノサイトゲネスであると検出・同定することができる。

表 35

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 31 v1 | V1 領域 | 10579601 |
| 50 v1 | V1 領域 | 2532393 |
| 55 v1 | V1 領域 | 984441 |
| 56 v1 | V1 領域 | 891055 |
| 53 v1 | V1 領域 | 853211 |
| 52 v1 | V1 領域 | 828320 |
| 02 v1 | V1 領域 | 776127 |
| 01 v1 | V1 領域 | 726470 |
| 13 v1 | V1 領域 | 719011 |
| 07 v1 | V1 領域 | 691938 |
| 31 v2 | V2 領域 | 10336138 |
| 06 v2 | V2 領域 | 691113 |
| 52 v2 | V2 領域 | 311987 |
| 56 v2 | V2 領域 | 280315 |
| 55 v2 | V2 領域 | 269230 |
| 24 v2 | V2 領域 | 254150 |
| 14 v2 | V2 領域 | 251251 |
| 51 v2 | V2 領域 | 250609 |
| 28 v2 | V2 領域 | 247383 |
| 49 v2 | V2 領域 | 243528 |
| 31 v3 | V3 領域 | 7713541 |
| 27 v3 | V3 領域 | 807508 |
| 39 v3 | V3 領域 | 606205 |
| 38 v3 | V3 領域 | 519822 |
| 32 v3 | V3 領域 | 367659 |
| 37 v3 | V3 領域 | 338211 |
| 26 v3 | V3 領域 | 275414 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 249554 |
| 46 v3 | V3 領域 | 248050 |
| 15 v3 | V3 領域 | 245416 |

表 36 は、クロストリジウム・パーフリンゲンス（微生物 ID 32）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 36 の結果から、クロストリジウム・パーフリンゲンスは、プローブ 32 v1、32 v2、32 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 32 v1、v2 プローブでは 32 v2、v3 プローブでは 32 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたクロストリジウム・パーフリンゲンスであると検出・同定することができる。

表 36

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 32 v1 | V1 領域 | 13777878 |
| 02 v1 | V1 領域 | 6313849 |
| 50 v1 | V1 領域 | 4552246 |
| 07 v1 | V1 領域 | 3595672 |
| 13 v1 | V1 領域 | 3360097 |
| 20 v1 | V1 領域 | 2960479 |
| 17 v1 | V1 領域 | 2794853 |
| 16_46 v1 | V1 領域 | 2575870 |
| 15 v1 | V1 領域 | 2569927 |
| 22 v1 | V1 領域 | 2336865 |
| 32 v2 | V2 領域 | 19353147 |
| 13 v2 | V2 領域 | 816957 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 757723 |
| 25 v2 | V2 領域 | 716127 |
| 08 18 22_45 v2 | V2 領域 | 690633 |
| 24 v2 | V2 領域 | 644953 |
| 19 v2 | V2 領域 | 635561 |
| 35 v2 | V2 領域 | 585284 |
| 03 v2 | V2 領域 | 531673 |
| 26 v2 | V2 領域 | 525063 |
| 32 v3 | V3 領域 | 16219819 |
| 35 v3 | V3 領域 | 650373 |
| 37 v3 | V3 領域 | 565610 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 500354 |
| 16 v3 | V3 領域 | 497630 |
| 05 v3 | V3 領域 | 496913 |
| 15 v3 | V3 領域 | 496064 |
| 08 v3 | V3 領域 | 487976 |
| 17 v3 | V3 領域 | 484020 |
| 20 v3 | V3 領域 | 476998 |

表 37 は、コリネバクテリウム・アクアチウム（微生物 ID 33）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 37 の結果から、コリネバクテリウム・アクアチウムは、プローブ 33 v1、33 v2、33 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 33 v1、v2 プローブでは 33 v2、v3 プローブでは 33 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたコリネバクテリウム・アクアチウムであると検出・同定することができる。

表 37

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 33 v1 | V1 領域 | 28909022 |
| 09 v1 | V1 領域 | 2068941 |
| 56 v1 | V1 領域 | 1810656 |
| 54 v1 | V1 領域 | 1617630 |
| 27 v1 | V1 領域 | 1480859 |
| 55 v1 | V1 領域 | 1439777 |
| 50 v1 | V1 領域 | 1409621 |
| 26 v1 | V1 領域 | 1387770 |
| 53 v1 | V1 領域 | 1291271 |
| 39 v1 | V1 領域 | 1138148 |
| 33 v2 | V2 領域 | 25700462 |
| 24 v2 | V2 領域 | 457898 |
| 49 v2 | V2 領域 | 456921 |
| 54 v2 | V2 領域 | 428638 |
| 01 v2 | V2 領域 | 411464 |
| 36 v2 | V2 領域 | 400441 |
| 04 v2 | V2 領域 | 393293 |
| 53 v2 | V2 領域 | 390216 |
| 17 v2 | V2 領域 | 384017 |
| 51 v2 | V2 領域 | 382889 |
| 33 v3 | V3 領域 | 28292530 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 5160490 |
| 36 v3 | V3 領域 | 674367 |
| 09 v3 | V3 領域 | 446040 |
| 14 v3 | V3 領域 | 412684 |
| 12 v3 | V3 領域 | 404894 |
| 11 v3 | V3 領域 | 400830 |
| 45 v3 | V3 領域 | 400482 |
| 51 v3 | V3 領域 | 395914 |
| 37 v3 | V3 領域 | 386918 |

表 38 は、ストレプトコッカス・オラリス（微生物 ID 34）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 38 の結果から、ストレプトコッカス・オラリスは、プローブ 34 v1 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 34 v1、v2 プローブでは 34 v2、29 v2、v3 プローブでは 06_29_34 v3、28 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたストレプトコッカス・オラリスであると検出・同定することができる。

表 38

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 34 v1 | V1 領域 | 24080197 |
| 28 v1 | V1 領域 | 1861839 |
| 06 v1 | V1 領域 | 1204010 |
| 29 v1 | V1 領域 | 1170109 |
| 21_30 v1 | V1 領域 | 885996 |
| 12 v1 | V1 領域 | 551619 |
| 44 v1 | V1 領域 | 371715 |
| 09 v1 | V1 領域 | 337683 |
| 43 v1 | V1 領域 | 333226 |
| 49 v1 | V1 領域 | 332371 |
| 34 v2 | V2 領域 | 33175215 |
| 29 v2 | V2 領域 | 19338371 |
| 06 v2 | V2 領域 | 11360152 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 758561 |
| 19 v2 | V2 領域 | 656311 |
| 25 v2 | V2 領域 | 613932 |
| 24 v2 | V2 領域 | 543703 |
| 13 v2 | V2 領域 | 501048 |
| 36 v2 | V2 領域 | 495447 |
| 49 v2 | V2 領域 | 487737 |
| 06_29_34 v3 | V3 領域 | 36729451 |
| 28 v3 | V3 領域 | 28871172 |
| 21 v3 | V3 領域 | 13393371 |
| 23_30 v3 | V3 領域 | 4976666 |
| 25 v3 | V3 領域 | 475218 |
| 32 v3 | V3 領域 | 343167 |
| 08 v3 | V3 領域 | 287733 |
| 43 v3 | V3 領域 | 222977 |
| 49 v3 | V3 領域 | 213318 |
| 39 v3 | V3 領域 | 177710 |

表 39 は、スタフィロコッカス・アウレウス（微生物 ID 35）の 16S rRNA の V1 ～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 39 の結果から、スタフィロコッカス・アウレウスは、プローブ 35 v1 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 35 v1、v2 プローブでは 35 v2、20 v2、v3 プローブでは 35 v3、16 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたスタフィロコッカス・アウレウスであると検出・同定することができる。

表 39

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 35 v1 | V1 領域 | 2697296 |
| 13 v1 | V1 領域 | 474763 |
| 20 v1 | V1 領域 | 454987 |
| 10 v1 | V1 領域 | 428401 |
| 17 v1 | V1 領域 | 426633 |
| 15 v1 | V1 領域 | 413146 |
| 16_46 v1 | V1 領域 | 405001 |
| 32 v1 | V1 領域 | 404788 |
| 07 v1 | V1 領域 | 401440 |
| 31 v1 | V1 領域 | 399650 |
| 35 v2 | V2 領域 | 7879871 |
| 20 v2 | V2 領域 | 5687671 |
| 46 v2 | V2 領域 | 387611 |
| 17 v2 | V2 領域 | 381876 |
| 15 v2 | V2 領域 | 381541 |
| 16 v2 | V2 領域 | 378876 |
| 38_39 v2 | V2 領域 | 326987 |
| 19 v2 | V2 領域 | 329887 |
| 49 v2 | V2 領域 | 318761 |
| 34 v2 | V2 領域 | 309919 |
| 35 v3 | V3 領域 | 19330782 |
| 16 v3 | V3 領域 | 14291750 |
| 15 v3 | V3 領域 | 5158030 |
| 17 v3 | V3 領域 | 2649605 |
| 20 v3 | V3 領域 | 2643488 |
| 46 v3 | V3 領域 | 2466902 |
| 04 v3 | V3 領域 | 519443 |
| 37 v3 | V3 領域 | 457426 |
| 32 v3 | V3 領域 | 445579 |
| 24 v3 | V3 領域 | 419666 |

表 40 は、ナイセリア・メニンギチデイス（微生物 ID 36）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 40 の結果から、ナイセリア・メニンギチデイスは、プローブ 36 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 36 v1、11 v1、v2 プローブでは 36 v2、11 v2、v3 プローブでは 36 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたナイセリア・メニンギチデイスであると検出・同定することができる。

表 40

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 36 v1 | V1 領域 | 32691113 |
| 11 v1 | V1 領域 | 17218976 |
| 04 v1 | V1 領域 | 4765111 |
| 50 v1 | V1 領域 | 2786176 |
| 08 v1 | V1 領域 | 1567121 |
| 09 v1 | V1 領域 | 1387629 |
| 52 v1 | V1 領域 | 1018762 |
| 53 v1 | V1 領域 | 908761 |
| 54 v1 | V1 領域 | 892145 |
| 56 v1 | V1 領域 | 882165 |
| 36 v2 | V2 領域 | 35287615 |
| 11 v2 | V2 領域 | 18876111 |
| 07 v2 | V2 領域 | 5876819 |
| 04 v2 | V2 領域 | 4876112 |
| 40 v2 | V2 領域 | 3087611 |
| 02 v2 | V2 領域 | 2898798 |
| 24 v2 | V2 領域 | 2787687 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 2287657 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 2098791 |
| 19 v2 | V2 領域 | 2007611 |
| 36 v3 | V3 領域 | 24445975 |
| 11 v3 | V3 領域 | 1785303 |
| 49 v3 | V3 領域 | 685013 |
| 38 v3 | V3 領域 | 640621 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 615719 |
| 04 v3 | V3 領域 | 567466 |
| 48 v3 | V3 領域 | 470694 |
| 33 v3 | V3 領域 | 420137 |
| 28 v3 | V3 領域 | 272902 |
| 52_55 v3 | V3 領域 | 270469 |

表 41 は、カンピロバクター・フェタス（微生物 ID 37）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 41 の結果から、カンピロバクター・フェタスは、プローブ 37 v1、37 v2、37 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 37 v1、v2 プローブでは 37 v2、v3 プローブでは 37 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたカンピロバクター・フェタスであると検出・同定することができる。

表 41

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 37 v1 | V1 領域 | 28176245 |
| 50 v1 | V1 領域 | 6876182 |
| 09 v1 | V1 領域 | 3876141 |
| 39 v1 | V1 領域 | 3201876 |
| 38 v1 | V1 領域 | 3016411 |
| 53 v1 | V1 領域 | 2787635 |
| 55 v1 | V1 領域 | 2516252 |
| 31 v1 | V1 領域 | 2387613 |
| 27 v1 | V1 領域 | 2298713 |
| 52 v1 | V1 領域 | 2017824 |
| 37 v2 | V2 領域 | 38923509 |
| 35 v2 | V2 領域 | 352512 |
| 16 v2 | V2 領域 | 341168 |
| 15 v2 | V2 領域 | 333426 |
| 03 v2 | V2 領域 | 330858 |
| 26 v2 | V2 領域 | 326179 |
| 04 v2 | V2 領域 | 317611 |
| 17 v2 | V2 領域 | 308803 |
| 38_39 v2 | V2 領域 | 307528 |
| 05 v2 | V2 領域 | 306582 |
| 37 v3 | V3 領域 | 32361007 |
| 05 v3 | V3 領域 | 620284 |
| 33 v3 | V3 領域 | 556400 |
| 32 v3 | V3 領域 | 444124 |
| 45 v3 | V3 領域 | 344770 |
| 13 v3 | V3 領域 | 341006 |
| 11 v3 | V3 領域 | 331067 |
| 48 v3 | V3 領域 | 323257 |
| 17 v3 | V3 領域 | 322958 |
| 35 v3 | V3 領域 | 319217 |

表 42 は、エンテロコッカス・ガリナルム（微生物 ID 38）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 42 の結果から、エンテロコッカス・ガリナルムは、プローブ 38 v1、38 v2、38 v3 の単独使用により同定はできなかったが、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断すると、v1 プローブでは 38 v1、39 v1、v2 プローブでは 38_39 v2、v3 プローブでは 38 v3、39 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたエンテロコッカス・ガリナルムもしくはエンテロコッカス・カセリフラバスの存在が検出可能であった。

表 42

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|-------------|-------|----------|
| 38 v1 | V1 領域 | 6517750 |
| 39 v1 | V1 領域 | 4901402 |
| 27 v1 | V1 領域 | 789749 |
| 55 v1 | V1 領域 | 676041 |
| 53 v1 | V1 領域 | 672402 |
| 56 v1 | V1 領域 | 668186 |
| 52 v1 | V1 領域 | 665378 |
| 54 v1 | V1 領域 | 628486 |
| 50 v1 | V1 領域 | 586201 |
| 09 v1 | V1 領域 | 540023 |
| 38_39 v2 | V2 領域 | 4946381 |
| 27 v2 | V2 領域 | 324809 |
| 46 v2 | V2 領域 | 283923 |
| 04 v2 | V2 領域 | 266692 |
| 07 v2 | V2 領域 | 243399 |
| 26 v2 | V2 領域 | 237094 |
| 36 v2 | V2 領域 | 225802 |
| 35 v2 | V2 領域 | 220052 |
| 24 v2 | V2 領域 | 199337 |
| 16 v2 | V2 領域 | 198654 |
| 38 v3 | V3 領域 | 2487517 |
| 39 v3 | V3 領域 | 1886944 |
| 27 v3 | V3 領域 | 678538 |
| 31 v3 | V3 領域 | 491787 |
| 28 v3 | V3 領域 | 348711 |
| 06_29_34 v3 | V3 領域 | 298851 |
| 32 v3 | V3 領域 | 281756 |
| 37 v3 | V3 領域 | 278761 |
| 26 v3 | V3 領域 | 215761 |
| 23_30 v3 | V3 領域 | 198725 |

表 43 は、エンテロコッカス・カセリフラバス（微生物 ID 39）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 43 の結果から、エンテロコッカス・カセリフラバスは、プローブ 39 v1、39 v2、39 v3 の単独使用により同定はできなかったが、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断すると、v1 プローブでは 39 v1、38 v1、v2 プローブでは 38_39 v2、v3 プローブでは 39 v3、38 v3、27 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたエンテロコッカス・カセリフラバスもしくはエンテロコッカス・ガリナルムの存在が検出できる。

表 43

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 39 v1 | V1 領域 | 10173097 |
| 38 v1 | V1 領域 | 9707541 |
| 27 v1 | V1 領域 | 1919310 |
| 26 v1 | V1 領域 | 1016063 |
| 52 v1 | V1 領域 | 905910 |
| 53 v1 | V1 領域 | 841171 |
| 56 v1 | V1 領域 | 801008 |
| 55 v1 | V1 領域 | 754869 |
| 54 v1 | V1 領域 | 746869 |
| 09 v1 | V1 領域 | 729929 |
| 38_39 v2 | V2 領域 | 10097683 |
| 27 v2 | V2 領域 | 308179 |
| 04 v2 | V2 領域 | 288203 |
| 33 v2 | V2 領域 | 253786 |
| 07 v2 | V2 領域 | 243847 |
| 36 v2 | V2 領域 | 232551 |
| 28 v2 | V2 領域 | 225088 |
| 06 v2 | V2 領域 | 222919 |
| 14 v2 | V2 領域 | 222342 |
| 46 v2 | V2 領域 | 221837 |
| 39 v3 | V3 領域 | 7611583 |
| 38 v3 | V3 領域 | 5728271 |
| 27 v3 | V3 領域 | 2777612 |
| 31 v3 | V3 領域 | 611879 |
| 28 v3 | V3 領域 | 528693 |
| 44 v3 | V3 領域 | 329722 |
| 32 v3 | V3 領域 | 294821 |
| 23_30 v3 | V3 領域 | 281214 |
| 37 v3 | V3 領域 | 277122 |
| 21 v3 | V3 領域 | 223212 |

表 44 は、エロモナス・ハイドロフィラ（微生物 ID 40）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 44 の結果から、エロモナス・ハイドロフィラは、プローブ 40 v1、40 v2、40 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 40 v1、v2 プローブでは 40 v2、v3 プローブでは 40 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたエロモナス・ハイドロフィラであると検出・同定することができる。

表 44

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|-------------|-------|----------|
| 40 v1 | V1 領域 | 8192676 |
| 14 v1 | V1 領域 | 1257526 |
| 13 v1 | V1 領域 | 1086045 |
| 32 v1 | V1 領域 | 943819 |
| 02 v1 | V1 領域 | 840592 |
| 22 v1 | V1 領域 | 715704 |
| 10 v1 | V1 領域 | 707947 |
| 07 v1 | V1 領域 | 696602 |
| 50 v1 | V1 領域 | 615060 |
| 36 v1 | V1 領域 | 580709 |
| 40 v2 | V2 領域 | 20473111 |
| 11 v2 | V2 領域 | 5040956 |
| 04 v2 | V2 領域 | 4658427 |
| 36 v2 | V2 領域 | 3038991 |
| 10 v2 | V2 領域 | 1562511 |
| 51 v2 | V2 領域 | 1443971 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 1240287 |
| 25 v2 | V2 領域 | 1048912 |
| 07 v2 | V2 領域 | 1011046 |
| 19 v2 | V2 領域 | 921406 |
| 40 v3 | V3 領域 | 17741881 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 878575 |
| 22 v3 | V3 領域 | 788368 |
| 08 v3 | V3 領域 | 361891 |
| 19 v3 | V3 領域 | 265936 |
| 25 v3 | V3 領域 | 260828 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 227853 |
| 46 v3 | V3 領域 | 222916 |
| 07 v3 | V3 領域 | 220238 |
| 05 v3 | V3 領域 | 217679 |

表 45 は、サルモネラ・パラチフィ A（微生物 ID 41）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 45 の結果から、サルモネラ・パラチフィ A は、プローブ 41 v1、41 v2、41 v3 の単独使用により同定はできなかったが、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断すると、v1 プローブでは 41 v1、42 v1、v2 プローブでは 41_42 v2、08_18_22_45_v2、v3 プローブでは 18_41_42 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたサルモネラ・パラチフィ A もしくはサルモネラ・チフィの存在が検出可能であった。

表 45

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 41 v1 | V1 領域 | 11027871 |
| 42 v1 | V1 領域 | 9997321 |
| 24 v1 | V1 領域 | 4213278 |
| 01 v1 | V1 領域 | 1698719 |
| 56 v1 | V1 領域 | 1349871 |
| 39 v1 | V1 領域 | 1321897 |
| 55 v1 | V1 領域 | 1299873 |
| 52 v1 | V1 領域 | 1288176 |
| 03 v1 | V1 領域 | 1284125 |
| 53 v1 | V1 領域 | 1187664 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 14866236 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 11103694 |
| 24 v2 | V2 領域 | 7643623 |
| 19 v2 | V2 領域 | 6381197 |
| 25 v2 | V2 領域 | 4083972 |
| 11 v2 | V2 領域 | 1708635 |
| 36 v2 | V2 領域 | 1151729 |
| 40 v2 | V2 領域 | 987650 |
| 13 v2 | V2 領域 | 861170 |
| 07 v2 | V2 領域 | 838110 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 44477558 |
| 08 v3 | V3 領域 | 3883445 |
| 25 v3 | V3 領域 | 2592177 |
| 13 v3 | V3 領域 | 2196040 |
| 05 v3 | V3 領域 | 2070933 |
| 24 v3 | V3 領域 | 1238550 |
| 45 v3 | V3 領域 | 1144361 |
| 22 v3 | V3 領域 | 1019021 |
| 19 v3 | V3 領域 | 788897 |
| 10 v3 | V3 領域 | 687740 |

表 46 は、サルモネラ・チフィ（微生物 ID 42）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 46 の結果から、サルモネラ・チフィは、プローブ 42 v1、42 v2、42 v3 の単独使用により同定はできなかったが、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断すると、v1 プローブでは 41 v1、42 v1、v2 プローブでは 41_42 v2、08_18_22_45 v2、v3 プローブでは 18_41_42 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたサルモネラ・チフィもしくはサルモネラ・パラチフィ A の存在が検出可能であった。

表 46

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 41 v1 | V1 領域 | 19765781 |
| 42 v1 | V1 領域 | 18519837 |
| 26 v1 | V1 領域 | 5918762 |
| 24 v1 | V1 領域 | 4891983 |
| 05 v1 | V1 領域 | 4151873 |
| 56 v1 | V1 領域 | 3924512 |
| 55 v1 | V1 領域 | 3518762 |
| 52 v1 | V1 領域 | 3401191 |
| 53 v1 | V1 領域 | 2998712 |
| 01 v1 | V1 領域 | 2122987 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 20917542 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 16851388 |
| 24 v2 | V2 領域 | 7913337 |
| 19 v2 | V2 領域 | 5278967 |
| 25 v2 | V2 領域 | 3466704 |
| 11 v2 | V2 領域 | 2547883 |
| 36 v2 | V2 領域 | 1767852 |
| 40 v2 | V2 領域 | 1730755 |
| 02 v2 | V2 領域 | 1500814 |
| 07 v2 | V2 領域 | 1405621 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 21554387 |
| 05 v3 | V3 領域 | 4929756 |
| 08 v3 | V3 領域 | 3710485 |
| 25 v3 | V3 領域 | 3325205 |
| 13 v3 | V3 領域 | 2317940 |
| 45 v3 | V3 領域 | 1974662 |
| 24 v3 | V3 領域 | 1796852 |
| 19 v3 | V3 領域 | 1366178 |
| 22 v3 | V3 領域 | 1361857 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 1049738 |

表 47 は、ストレプトコッカス・エクイシミリス（微生物 ID 43）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 47 の結果から、ストレプトコッカス・エクイシミリスは、プローブ 43 v2 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断すると、v1 プローブでは 43 v1、49 v1、44 v1、v2 プローブでは 43 v2、v3 プローブでは 43 v3、49 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたストレプトコッカス・エクイシミリスであると検出・同定することができる。

表 47

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 43 v1 | V1 領域 | 17876978 |
| 49 v1 | V1 領域 | 10987138 |
| 44 v1 | V1 領域 | 7918732 |
| 07 v1 | V1 領域 | 617263 |
| 21_30 v1 | V1 領域 | 601987 |
| 28 v1 | V1 領域 | 578186 |
| 06 v1 | V1 領域 | 558761 |
| 12 v1 | V1 領域 | 497867 |
| 09 v1 | V1 領域 | 481649 |
| 29 v1 | V1 領域 | 463278 |
| 43 v2 | V2 領域 | 16515111 |
| 44 v2 | V2 領域 | 1114371 |
| 24 v2 | V2 領域 | 552425 |
| 25 v2 | V2 領域 | 528801 |
| 19 v2 | V2 領域 | 496115 |
| 36 v2 | V2 領域 | 434616 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 432575 |
| 13 v2 | V2 領域 | 432559 |
| 04 v2 | V2 領域 | 416492 |
| 49 v2 | V2 領域 | 407134 |
| 43 v3 | V3 領域 | 43685987 |
| 49 v3 | V3 領域 | 27404940 |
| 45 v3 | V3 領域 | 1861661 |
| 12 v3 | V3 領域 | 1662885 |
| 44 v3 | V3 領域 | 1586160 |
| 32 v3 | V3 領域 | 1171556 |
| 28 v3 | V3 領域 | 433031 |
| 06_29_34 v3 | V3 領域 | 290481 |
| 23_30 v3 | V3 領域 | 286664 |
| 21 v3 | V3 領域 | 272138 |

表 48 は、ストレプトコッカス・カニス（微生物 ID 44）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 48 の結果から、ストレプトコッカス・カニスは、プローブ 44 v1、44 v2、44 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断すると、v1 プローブでは 44 v1、v2 プローブでは 44 v2、v3 プローブでは 44 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたストレプトコッカス・カニスであると検出・同定することができる。

表 48

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 44 v1 | V1 領域 | 35094631 |
| 43 v1 | V1 領域 | 2427565 |
| 47 v1 | V1 領域 | 1943075 |
| 49 v1 | V1 領域 | 1355586 |
| 52 v1 | V1 領域 | 1229788 |
| 28 v1 | V1 領域 | 1151650 |
| 53 v1 | V1 領域 | 1026335 |
| 21_30 v1 | V1 領域 | 1010370 |
| 12 v1 | V1 領域 | 993928 |
| 39 v1 | V1 領域 | 985182 |
| 44 v2 | V2 領域 | 23079672 |
| 25 v2 | V2 領域 | 1627031 |
| 24 v2 | V2 領域 | 1529748 |
| 19 v2 | V2 領域 | 1427430 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 1348247 |
| 13 v2 | V2 領域 | 1306064 |
| 43 v2 | V2 領域 | 1276319 |
| 36 v2 | V2 領域 | 1220998 |
| 49 v2 | V2 領域 | 1088665 |
| 04 v2 | V2 領域 | 1081821 |
| 44 v3 | V3 領域 | 21280416 |
| 43 v3 | V3 領域 | 3751773 |
| 49 v3 | V3 領域 | 3344193 |
| 12 v3 | V3 領域 | 2123092 |
| 32 v3 | V3 領域 | 1237399 |
| 46 v3 | V3 領域 | 1066998 |
| 28 v3 | V3 領域 | 985713 |
| 21 v3 | V3 領域 | 943735 |
| 06_29_34 v3 | V3 領域 | 714979 |
| 39 v3 | V3 領域 | 690467 |

表 49 は、クレブセラ・オキシトカ（微生物 ID 45）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 49 の結果から、クレブセラ・オキシトカは、プローブ 45 v1、45 v2、45 v3 の単独使用により同定はできなかったが、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断すると、v1 プローブでは 18_45 v1、19_25 v1、v2 プローブでは 41_42 v2、08_18_22_45 v2、v3 プローブでは 45 v3、05 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたクレブセラ・オキシトカであると検出・同定することができる。

表 49

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 18_45 v1 | V1 領域 | 2898674 |
| 19_25 v1 | V1 領域 | 1208235 |
| 26 v1 | V1 領域 | 755934 |
| 35 v1 | V1 領域 | 721250 |
| 52 v1 | V1 領域 | 717318 |
| 42 v1 | V1 領域 | 660524 |
| 41 v1 | V1 領域 | 634164 |
| 55 v1 | V1 領域 | 613698 |
| 53 v1 | V1 領域 | 601442 |
| 08 v1 | V1 領域 | 593709 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 8934930 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 5101372 |
| 24 v2 | V2 領域 | 2385253 |
| 19 v2 | V2 領域 | 1623113 |
| 25 v2 | V2 領域 | 1112476 |
| 11 v2 | V2 領域 | 721183 |
| 40 v2 | V2 領域 | 661800 |
| 51 v2 | V2 領域 | 567220 |
| 36 v2 | V2 領域 | 535714 |
| 10 v2 | V2 領域 | 534958 |
| 45 v3 | V3 領域 | 7431501 |
| 05 v3 | V3 領域 | 4897697 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 1598792 |
| 25 v3 | V3 領域 | 1298790 |
| 08 v3 | V3 領域 | 778610 |
| 13 v3 | V3 領域 | 729871 |
| 19 v3 | V3 領域 | 619873 |
| 15 v3 | V3 領域 | 588761 |
| 31 v3 | V3 領域 | 568712 |
| 26 v3 | V3 領域 | 512791 |

表 50 は、スタフィロコッカス・サブロフィティカス（微生物 ID 46）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 50 の結果から、スタフィロコッカス・サブロフィティカスは、プローブ 46 v2 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 16_46 v1、17 v1、15 v1、v2 プローブでは 46 v2、v3 プローブでは 46 v3、15 v3、20 v3、16 v3、17 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたスタフィロコッカス・サブロフィティカスであると検出・同定することができる。

表 50

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 16_46 v1 | V1 領域 | 10277032 |
| 17 v1 | V1 領域 | 9674540 |
| 15 v1 | V1 領域 | 8769172 |
| 20 v1 | V1 領域 | 3283426 |
| 07 v1 | V1 領域 | 1892855 |
| 02 v1 | V1 領域 | 1889753 |
| 22 v1 | V1 領域 | 1546011 |
| 13 v1 | V1 領域 | 1243847 |
| 50 v1 | V1 領域 | 1070738 |
| 35 v1 | V1 領域 | 1003672 |
| 46 v2 | V2 領域 | 4786129 |
| 17 v2 | V2 領域 | 1887621 |
| 35 v2 | V2 領域 | 1717876 |
| 15 v2 | V2 領域 | 886876 |
| 16 v2 | V2 領域 | 478765 |
| 20 v2 | V2 領域 | 437165 |
| 01 v2 | V2 領域 | 258761 |
| 04 v2 | V2 領域 | 231987 |
| 24 v2 | V2 領域 | 228761 |
| 51 v2 | V2 領域 | 217861 |
| 46 v3 | V3 領域 | 6991183 |
| 15 v3 | V3 領域 | 6554178 |
| 20 v3 | V3 領域 | 5145896 |
| 16 v3 | V3 領域 | 4530444 |
| 17 v3 | V3 領域 | 4503253 |
| 35 v3 | V3 領域 | 2942362 |
| 04 v3 | V3 領域 | 456583 |
| 32 v3 | V3 領域 | 366061 |
| 49 v3 | V3 領域 | 334503 |
| 09 v3 | V3 領域 | 281250 |

表 51 は、パスツレラ・ムルトシダ（微生物 ID 47）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 51 の結果から、パスツレラ・ムルトシダは、プローブ 47 v2、47 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 47 v1、01 v1、v2 プローブでは 47 v2、v3 プローブでは 47 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたパスツレラ・ムルトシダであると検出・同定することができる。

表 51

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 47 v1 | V1 領域 | 26718761 |
| 01 v1 | V1 領域 | 18765112 |
| 03 v1 | V1 領域 | 8876112 |
| 14 v1 | V1 領域 | 6987991 |
| 24 v1 | V1 領域 | 5989798 |
| 42 v1 | V1 領域 | 5587619 |
| 41 v1 | V1 領域 | 5287681 |
| 56 v1 | V1 領域 | 3987911 |
| 50 v1 | V1 領域 | 3387162 |
| 05 v1 | V1 領域 | 2589761 |
| 47 v2 | V2 領域 | 37586588 |
| 03 v2 | V2 領域 | 4960568 |
| 24 v2 | V2 領域 | 446406 |
| 01 v2 | V2 領域 | 347257 |
| 19 v2 | V2 領域 | 304368 |
| 48 v2 | V2 領域 | 302776 |
| 07 v2 | V2 領域 | 301324 |
| 25 v2 | V2 領域 | 293772 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 288850 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 286261 |
| 47 v3 | V3 領域 | 33921374 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 1892549 |
| 14 v3 | V3 領域 | 261579 |
| 01 v3 | V3 領域 | 257277 |
| 04 v3 | V3 領域 | 250816 |
| 23_30 v3 | V3 領域 | 250456 |
| 28 v3 | V3 領域 | 247470 |
| 11 v3 | V3 領域 | 246482 |
| 21 v3 | V3 領域 | 245279 |
| 49 v3 | V3 領域 | 244577 |

表 52 は、エイケネラ・コロデンス（微生物 ID 48）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 52 の結果から、エイケネラ・コロデンスは、プローブ 48 v1、48 v2、48 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 48 v1、v2 プローブでは 48 v2、v3 プローブでは 48 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたエイケネラ・コロデンスであると検出・同定することができる。

表 52

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|---------------|-------|----------|
| 48 v1 | V1 領域 | 13502759 |
| 56 v1 | V1 領域 | 990652 |
| 53 v1 | V1 領域 | 901384 |
| 55 v1 | V1 領域 | 896907 |
| 54 v1 | V1 領域 | 853309 |
| 51 v1 | V1 領域 | 751093 |
| 52 v1 | V1 領域 | 730236 |
| 50 v1 | V1 領域 | 557710 |
| 36 v1 | V1 領域 | 468439 |
| 40 v1 | V1 領域 | 427702 |
| 48 v2 | V2 領域 | 14921478 |
| 7 v2 | V2 領域 | 1825342 |
| 40 v2 | V2 領域 | 1026522 |
| 4 v2 | V2 領域 | 732834 |
| 36 v2 | V2 領域 | 514674 |
| 50 v2 | V2 領域 | 389476 |
| 8_18_22_45 v2 | V2 領域 | 360461 |
| 55 v2 | V2 領域 | 357967 |
| 51 v2 | V2 領域 | 356507 |
| 11 v2 | V2 領域 | 353923 |
| 48 v3 | V3 領域 | 10069025 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 794485 |
| 50 v3 | V3 領域 | 440359 |
| 51 v3 | V3 領域 | 376628 |
| 47 v3 | V3 領域 | 366841 |
| 52_55 v3 | V3 領域 | 349558 |
| 40 v3 | V3 領域 | 344429 |
| 2 v3 | V3 領域 | 326945 |
| 56 v3 | V3 領域 | 324890 |
| 36 v3 | V3 領域 | 324201 |

表 53 は、ストレプトコッカス・ピオゲネス（微生物 ID 49）の 16S rRNA の V1 ～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 53 の結果から、ストレプトコッカス・ピオゲネスは、プローブ 49 v2 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 49 v1、43 v1、v2 プローブでは 49 v2、v3 プローブでは 49 v3、43 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたストレプトコッカス・ピオゲネスであると検出・同定することができる。

表 53

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|---------------|-------|----------|
| 49 v1 | V1 領域 | 9198798 |
| 43 v1 | V1 領域 | 7387612 |
| 28 v1 | V1 領域 | 987988 |
| 21_30 v1 | V1 領域 | 787618 |
| 44 v1 | V1 領域 | 678681 |
| 19_25 v1 | V1 領域 | 571614 |
| 17 v1 | V1 領域 | 571185 |
| 16_46 v1 | V1 領域 | 479871 |
| 4 v1 | V1 領域 | 408791 |
| 53 v1 | V1 領域 | 387987 |
| 49 v2 | V2 領域 | 14086816 |
| 7 v2 | V2 領域 | 431324 |
| 25 v2 | V2 領域 | 361329 |
| 4 v2 | V2 領域 | 350067 |
| 19 v2 | V2 領域 | 348217 |
| 24 v2 | V2 領域 | 342690 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 323245 |
| 36 v2 | V2 領域 | 317579 |
| 34 v2 | V2 領域 | 305133 |
| 8_18_22_45 v2 | V2 領域 | 301791 |
| 49 v3 | V3 領域 | 14313338 |
| 43 v3 | V3 領域 | 14017125 |
| 12 v3 | V3 領域 | 1716148 |
| 32 v3 | V3 領域 | 551288 |
| 44 v3 | V3 領域 | 525264 |
| 45 v3 | V3 領域 | 464793 |
| 46 v3 | V3 領域 | 359604 |
| 8 v3 | V3 領域 | 358468 |
| 24 v3 | V3 領域 | 355960 |
| 22 v3 | V3 領域 | 339749 |

表 54 は、モラキセラ・カタラリス（微生物 ID 50）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 54 の結果から、モラキセラ・カタラリスは、プローブ 50 v1、50 v2、50 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せを総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 50 v1、v2 プローブでは 50 v2、v3 プローブでは 50 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたモラキセラ・カタラリスであると検出・同定することができる。

表 54

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------------|-------|----------|
| 50 v1 | V1 領域 | 33692348 |
| 31 v1 | V1 領域 | 2237951 |
| 07 v1 | V1 領域 | 1491773 |
| 08 v1 | V1 領域 | 1395166 |
| 01 v1 | V1 領域 | 1184515 |
| 20 v1 | V1 領域 | 1133034 |
| 09 v1 | V1 領域 | 1067291 |
| 17 v1 | V1 領域 | 935114 |
| 16_46 v1 | V1 領域 | 911298 |
| 03 v1 | V1 領域 | 907361 |
| 50 v2 | V2 領域 | 8304820 |
| 04 v2 | V2 領域 | 3299611 |
| 07 v2 | V2 領域 | 893720 |
| 08_18_22_45 v2 | V2 領域 | 827816 |
| 40 v2 | V2 領域 | 788590 |
| 19 v2 | V2 領域 | 758554 |
| 25 v2 | V2 領域 | 743874 |
| 36 v2 | V2 領域 | 654115 |
| 02 v2 | V2 領域 | 591388 |
| 11 v2 | V2 領域 | 589922 |
| 50 v3 | V3 領域 | 5799671 |
| 31 v3 | V3 領域 | 319034 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 312670 |
| 24 v3 | V3 領域 | 308527 |
| 25 v3 | V3 領域 | 290458 |
| 05 v3 | V3 領域 | 281378 |
| 45 v3 | V3 領域 | 254033 |
| 19 v3 | V3 領域 | 252532 |
| 07 v3 | V3 領域 | 244682 |
| 20 v3 | V3 領域 | 239298 |

表 55 は、レジオネラ・ニューモフィラ（微生物 ID 51）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 55 の結果から、レジオネラ・ニューモフィラは、プローブ 51 v1、51 v2、51 v3 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 51 v1、v2 プローブでは 51 v2、v3 プローブでは 51 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたレジオネラ・ニューモフィラであると検出・同定することができる。

表 55

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 51 v1 | V1 領域 | 24876818 |
| 52 v1 | V1 領域 | 5287611 |
| 55 v1 | V1 領域 | 5119832 |
| 53 v1 | V1 領域 | 3871811 |
| 54 v1 | V1 領域 | 2876861 |
| 56 v1 | V1 領域 | 1976817 |
| 09 v1 | V1 領域 | 1387681 |
| 50 v1 | V1 領域 | 1287681 |
| 48 v1 | V1 領域 | 1198711 |
| 39 v1 | V1 領域 | 1019871 |
| 51 v2 | V2 領域 | 21387192 |
| 52 v2 | V2 領域 | 8987614 |
| 55 v2 | V2 領域 | 1989729 |
| 54 v2 | V2 領域 | 1898798 |
| 53 v2 | V2 領域 | 1598791 |
| 56 v2 | V2 領域 | 1498791 |
| 40 v2 | V2 領域 | 1467611 |
| 11 v2 | V2 領域 | 1298711 |
| 10 v2 | V2 領域 | 1119821 |
| 36 v2 | V2 領域 | 987123 |
| 51 v3 | V3 領域 | 14398704 |
| 52_55 v3 | V3 領域 | 1319899 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 491713 |
| 56 v3 | V3 領域 | 448711 |
| 38 v3 | V3 領域 | 418731 |
| 07 v3 | V3 領域 | 389816 |
| 19 v3 | V3 領域 | 387681 |
| 39 v3 | V3 領域 | 379918 |
| 37 v3 | V3 領域 | 368761 |
| 25 v3 | V3 領域 | 351875 |

表 56 は、マイコバクテリウム・ツベルクロシス（微生物 ID 52）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 56 の結果から、マイコバクテリウム・ツベルクロシスは、プローブ 52 v2 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 52 v1、55 v1、v2 プローブでは 52 v2、v3 プローブでは 52_55 v3、53_54 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたマイコバクテリウム・ツベルクロシスであると検出・同定することができる。

表 56

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 52 v1 | V1 領域 | 17196053 |
| 55 v1 | V1 領域 | 10411849 |
| 53 v1 | V1 領域 | 6047891 |
| 54 v1 | V1 領域 | 3971764 |
| 71 v1 | V1 領域 | 3827331 |
| 09 v1 | V1 領域 | 1197595 |
| 50 v1 | V1 領域 | 863188 |
| 48 v1 | V1 領域 | 843273 |
| 39 v1 | V1 領域 | 746841 |
| 38 v1 | V1 領域 | 672658 |
| 52 v2 | V2 領域 | 17398118 |
| 55 v2 | V2 領域 | 3193388 |
| 54 v2 | V2 領域 | 1821709 |
| 53 v2 | V2 領域 | 1598909 |
| 56 v2 | V2 領域 | 777591 |
| 40 v2 | V2 領域 | 408032 |
| 51 v2 | V2 領域 | 287459 |
| 11 v2 | V2 領域 | 251307 |
| 10 v2 | V2 領域 | 250094 |
| 36 v2 | V2 領域 | 240315 |
| 52_55 v3 | V3 領域 | 20381022 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 11192775 |
| 56 v3 | V3 領域 | 8461940 |
| 39 v3 | V3 領域 | 220756 |
| 07 v3 | V3 領域 | 157302 |
| 19 v3 | V3 領域 | 150205 |
| 39 v3 | V3 領域 | 148797 |
| 37 v3 | V3 領域 | 148389 |
| 25 v3 | V3 領域 | 142268 |
| 20 v3 | V3 領域 | 140806 |

表 57 は、マイコバクテリウム・アビウム（微生物 ID 53）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 57 の結果から、マイコバクテリウム・アビウムは、プローブ 53 v2 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 53 v1、54 v1、v2 プローブでは 53 v2、v3 プローブでは 56 v3、53_54 v3、52_55 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたマイコバクテリウム・アビウムであると検出・同定することができる。

表 57

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 53 v1 | V1 領域 | 46987988 |
| 54 v1 | V1 領域 | 36176731 |
| 52 v1 | V1 領域 | 6876819 |
| 55 v1 | V1 領域 | 6198763 |
| 56 v1 | V1 領域 | 1879132 |
| 10 v1 | V1 領域 | 1198723 |
| 13 v1 | V1 領域 | 939714 |
| 38 v1 | V1 領域 | 879813 |
| 05 v1 | V1 領域 | 826813 |
| 27 v1 | V1 領域 | 771568 |
| 53 v2 | V2 領域 | 21270538 |
| 40 v2 | V2 領域 | 2009083 |
| 10 v2 | V2 領域 | 1205790 |
| 11 v2 | V2 領域 | 963480 |
| 04 v2 | V2 領域 | 697372 |
| 51 v2 | V2 領域 | 694035 |
| 07 v2 | V2 領域 | 654143 |
| 19 v2 | V2 領域 | 604806 |
| 54 v2 | V2 領域 | 583414 |
| 52 v2 | V2 領域 | 566515 |
| 56 v3 | V3 領域 | 9459717 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 7329665 |
| 52_55 v3 | V3 領域 | 5980193 |
| 20 v3 | V3 領域 | 469364 |
| 17 v3 | V3 領域 | 441098 |
| 25 v3 | V3 領域 | 380680 |
| 07 v3 | V3 領域 | 347194 |
| 46 v3 | V3 領域 | 315047 |
| 15 v3 | V3 領域 | 289176 |
| 10 v3 | V3 領域 | 275267 |

表 58 は、マイコバクテリウム・イントラセルラレ（微生物 ID 54）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 58 の結果から、マイコバクテリウム・イントラセルラレは、プローブ 54 v2 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 54 v1、53 v1、v2 プローブでは 54 v2、v3 プローブでは 56 v3、53_54 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたマイコバクテリウム・イントラセルラレであると検出・同定することができる。

表 58

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 54 v1 | V1 領域 | 7189766 |
| 53 v1 | V1 領域 | 4722876 |
| 52 v1 | V1 領域 | 1118766 |
| 55 v1 | V1 領域 | 1028713 |
| 56 v1 | V1 領域 | 881676 |
| 22 v1 | V1 領域 | 741657 |
| 38 v1 | V1 領域 | 681913 |
| 10 v1 | V1 領域 | 397984 |
| 39 v1 | V1 領域 | 368282 |
| 26 v1 | V1 領域 | 359116 |
| 54 v2 | V2 領域 | 12115269 |
| 40 v2 | V2 領域 | 554944 |
| 53 v2 | V2 領域 | 552453 |
| 55 v2 | V2 領域 | 517305 |
| 52 v2 | V2 領域 | 386649 |
| 11 v2 | V2 領域 | 381540 |
| 51 v2 | V2 領域 | 336898 |
| 10 v2 | V2 領域 | 324627 |
| 04 v2 | V2 領域 | 258716 |
| 56 v2 | V2 領域 | 257203 |
| 56 v3 | V3 領域 | 12357477 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 9349485 |
| 52_55 v3 | V3 領域 | 7247924 |
| 51 v3 | V3 領域 | 215854 |
| 46 v3 | V3 領域 | 214074 |
| 17 v3 | V3 領域 | 213057 |
| 15 v3 | V3 領域 | 212109 |
| 35 v3 | V3 領域 | 210126 |
| 19 v3 | V3 領域 | 209265 |
| 45 v3 | V3 領域 | 207525 |

表 59 は、マイコバクテリウム・カンサシ（微生物 ID 55）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 59 の結果から、マイコバクテリウム・カンサシは、プローブ 55 v2 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 55 v1、52 v1、v2 プローブでは 55 v2、v3 プローブでは 52_55 v3、56 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたマイコバクテリウム・カンサシであると検出・同定することができる。

表 59

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|-------------|-------|----------|
| 55 v1 | V1 領域 | 27987135 |
| 52 v1 | V1 領域 | 18971812 |
| 53 v1 | V1 領域 | 4786132 |
| 54 v1 | V1 領域 | 3987133 |
| 56 v1 | V1 領域 | 2187634 |
| 38 v1 | V1 領域 | 1387681 |
| 39 v1 | V1 領域 | 1287731 |
| 27 v1 | V1 領域 | 1216765 |
| 26 v1 | V1 領域 | 1098791 |
| 05 v1 | V1 領域 | 798716 |
| 55 v2 | V2 領域 | 44217188 |
| 52 v2 | V2 領域 | 1171394 |
| 40 v2 | V2 領域 | 1161661 |
| 54 v2 | V2 領域 | 1123512 |
| 11 v2 | V2 領域 | 942604 |
| 53 v2 | V2 領域 | 872231 |
| 56 v2 | V2 領域 | 826313 |
| 10 v2 | V2 領域 | 695878 |
| 51 v2 | V2 領域 | 689889 |
| 07 v2 | V2 領域 | 663997 |
| 52_55 v3 | V3 領域 | 39856910 |
| 56 v3 | V3 領域 | 20350562 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 16127395 |
| 18_41_42 v3 | V3 領域 | 392542 |
| 08 v3 | V3 領域 | 368803 |
| 20 v3 | V3 領域 | 352527 |
| 07 v3 | V3 領域 | 347768 |
| 17 v3 | V3 領域 | 347648 |
| 45 v3 | V3 領域 | 343925 |
| 19 v3 | V3 領域 | 332638 |

表 60 は、マイコバクテリウム・ゴールドネ（微生物 ID 56）の 16S rRNA の V1～V3 領域を含む配列を有するポリヌクレオチドをチップ上の各プローブとハイブリダイズさせた結果を示す。表 60 の結果から、マイコバクテリウム・ゴールドネは、プローブ 56 v1、56 v2 の単独使用により検出、同定できることが明らかである。また、v1、v2、v3 プローブの組合せで総合的に判断した場合でも、v1 プローブでは 56 v1、v2 プローブでは 56 v2、v3 プローブでは 56 v3、53_54 v3 が比較的強いシグナル強度をもつため、各領域で高い強度が検出されたマイコバクテリウム・ゴールドネであると検出・同定することができる。

表 60

| プローブ ID | 領域 | 発光シグナル強度 |
|----------|-------|----------|
| 56 v1 | V1 領域 | 30688338 |
| 54 v1 | V1 領域 | 2713077 |
| 53 v1 | V1 領域 | 2497231 |
| 52 v1 | V1 領域 | 2093852 |
| 55 v1 | V1 領域 | 1112548 |
| 36 v1 | V1 領域 | 788790 |
| 10 v1 | V1 領域 | 725818 |
| 05 v1 | V1 領域 | 542286 |
| 13 v1 | V1 領域 | 538930 |
| 39 v1 | V1 領域 | 533300 |
| 56 v2 | V2 領域 | 7578904 |
| 52 v2 | V2 領域 | 1892398 |
| 40 v2 | V2 領域 | 1364607 |
| 51 v2 | V2 領域 | 984604 |
| 11 v2 | V2 領域 | 585449 |
| 10 v2 | V2 領域 | 580267 |
| 55 v2 | V2 領域 | 486057 |
| 02 v2 | V2 領域 | 450110 |
| 41_42 v2 | V2 領域 | 408259 |
| 54 v2 | V2 領域 | 397348 |
| 56 v3 | V3 領域 | 56594408 |
| 53_54 v3 | V3 領域 | 28772559 |
| 52_55 v3 | V3 領域 | 11861849 |
| 12 v3 | V3 領域 | 406138 |
| 20 v3 | V3 領域 | 296776 |
| 07 v3 | V3 領域 | 292847 |
| 44 v3 | V3 領域 | 290502 |
| 11 v3 | V3 領域 | 289832 |
| 17 v3 | V3 領域 | 284805 |
| 50 v3 | V3 領域 | 282254 |

[実施例 3] 複数のプローブによるシグナル結果に基づく微生物の同定方法

上記表 3 に記載された微生物由来の v1、v2 及び v3 プローブは、いずれもその塩基配列と他の微生物由来の塩基配列とのミスマッチが 3 個以下であるため、他の微生物由来の塩基配列とクロスハイブリダイゼーションを起こしやすく、単独のプローブによって検出、同定することが困難であった。このため、上記表 3 に記載された微生物については、その検出シグナルの傾向からグループ分けを行い、それら微生物由来の v1、v2 及び v3 プローブを用いたハイブリダイゼーションの検出シグナルの結果を総合的に検討し、その微生物がいずれの属種であるかを同定した。

例えば、ストレプトコッカス・ニューモニエ（微生物 ID 06）、ストレプトコッカス・ミティス（微生物 ID 29）及びストレプトコッカス・オラリス（微生物 ID 34）は同属の菌であるため相同性が高く、互いの区別が困難であり、特にストレプトコッカス・ニューモニエおよびストレプトコッカス・ミティスは単独プローブによる区別が不可能であった。そこでこれらをグループ A としてまとめ、被検体がこれら 3 種のいずれかであると判定された場合、各々に対応する 3 種の v1～v3 プローブを用いた更なる同定作業を行った。そして、ストレプトコッカス・ニューモニエ（微生物 ID 06）、ストレプトコッカス・ミティス（微生物 ID 29）及びストレプトコッカス・オラリス（微生物 ID 34）の 3 種類の微生物について、検出シグナルの結果を各微生物の各プローブについて表 61 のようにまとめた。

表 61

| | ID 06 微生物 | ID 29 微生物 | ID 34 微生物 |
|-----------|--------------|--------------|--------------|
| 06 v1プローブ | ◎ | ○(1) | × |
| 06 v2プローブ | ◎ | ○(2) | × |
| 06 v3プローブ | ◎ | ◎ | ◎ |
| 29 v1プローブ | ○(1) | ◎ | × |
| 29 v2プローブ | ○(2) | ◎ | ○(1) |
| 29 v3プローブ | ◎ | ◎ | ◎ |
| 34 v1プローブ | × | × | ◎ |
| 34 v2プローブ | × | ○(1) | ◎ |
| 34 v3プローブ | ◎ | ◎ | ◎ |

◎は微生物とプローブの間の塩基配列にミスマッチがなくシグナル強度が強いもの

○は微生物とプローブの間の塩基配列に3個以下のミスマッチがありシグナル強度が強いもの、()内はミスマッチ数

×は微生物とプローブの間の塩基配列に4個以上のミスマッチがありシグナル強度が弱いもの

表 61 から明らかなように、グループ A の各微生物は各プローブに対して独自の検出シグナルパターンを有する。すなわち、ストレプトコッカス・ニューモニエ（微生物 ID 06）は、34 v1 及び v2 プローブのシグナル強度が弱く、他の 06 v1～v3 プローブ、29 v1～v3 プローブ、34 v3 プローブではシグナル強度が強いので、これらのスポットにおける発色の程度を総合的に判断することによって、被検体がストレプトコッカス・ニューモニエ（微生物 ID 06）であるか否かを同定することができた。また、同様に、ストレプトコッカス・ミティス（微生物 ID 29）及びストレプトコッカス・オラリス（微生物 ID 34）についても、06 v1～v3、29 v1～v3、34 v1～v3 のプローブに対して特有のシグナル強度呈示パターンを有するので、これらのプローブのスポットにおける発色の程度を総合的に判断することによって、被検体がストレプトコッカス・ミティス（微生物 ID 29）あるいはストレプトコッカス・オラリス（微生物 ID 34）、ストレプトコッカス・ニューモニエ（微生物 ID 06）であるか否かを同定することができた。

同様に、スタフィロコッカス・ホミニス（微生物 ID 15）、スタフィロコッカス・ワルネリ（微生物 ID 16）、スタフィロコッカス・ヘモリティカス（微生物 ID 17）、スタフィロコッカス・エピデルミディス（微生物 ID 20）、スタフィロコッカス・アウレウス（微生物 ID 35）、スタフィロコッカス・サブロフィティカス（微生物 ID 46）は同属であるために 16S rRNA 遺伝子配列の類似性が高く、互いの区別が困難であり、特に、スタフィロコッカス・ホミニス、ストレプトコッカス・ワルネリ、スタフィロコッカス・ヘモリティカス、スタフィロコッカス・エピデルミディスは、単独プローブによる区別が不可能であった。そのため、これら微生物をグループ B として、各微生物の各プローブに対する独自の検出シグナルパターンを検討した。その結果を表 62 に示す。その結果、各微生物の有する独自の検出シグナルパターンに基づいて、微生物を同定することができることがわかった。

表 62

| | ID 15 微生物 | ID 16 微生物 | ID 17 微生物 | ID 20 微生物 | ID 35 微生物 | ID 46 微生物 |
|-----------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 15 v1プローブ | ◎ | ○(2) | ○(1) | ○(1) | × | ○(2) |
| 15 v2プローブ | ◎ | × | ○(1) | × | × | × |
| 15 v3プローブ | ◎ | ○(3) | ○(2) | ○(2) | ○(3) | ○(1) |
| 16 v1プローブ | ○(2) | ◎ | ○(1) | ○(3) | × | ◎ |
| 16 v2プローブ | × | ◎ | × | ○(3) | × | × |
| 16 v3プローブ | ○(3) | ◎ | × | ○(3) | ○(2) | × |
| 17 v1プローブ | ○(1) | ○(1) | ◎ | ○(2) | × | ○(1) |
| 17 v2プローブ | ○(1) | × | ◎ | × | × | × |
| 17 v3プローブ | ○(2) | × | ◎ | ○(2) | × | ○(3) |
| 20 v1プローブ | ○(1) | ○(3) | × | ◎ | × | ○(3) |
| 20 v2プローブ | × | ○(3) | × | ◎ | × | × |
| 20 v3プローブ | ○(2) | ○(3) | ○(2) | ◎ | ○(3) | ○(3) |
| 35 v1プローブ | × | × | × | × | ◎ | × |
| 46 v1プローブ | ○(2) | ◎ | ○(1) | ○(3) | × | ◎ |
| 46 v2プローブ | × | × | × | × | × | ◎ |
| 46 v3プローブ | ○(1) | × | ○(3) | ○(3) | × | ◎ |

◎は微生物とプローブの間の塩基配列にミスマッチがなくシグナル強度が強いもの

○は微生物とプローブの間の塩基配列に3個以下のミスマッチがありシグナル強度が強いもの、()内はミスマッチ数

×は微生物とプローブの間の塩基配列に4個以上のミスマッチがありシグナル強度が弱いもの

同様に、シトロバクター・フレンディ（微生物 ID 08）、エンテロバクター・クロアカ（微生物 ID 18）、エンテロバクター・アエロゲネス（微生物 ID 19）、セラチア・マルセッセンス（微生物 ID 22）、エシェリシア・コリ（微生物 ID 24）、クレブセラ・ニューモニエ（微生物 ID 25）、サルモネラ・パラチフィ A（微生物 ID 41）、サルモネラ・チフィ（微生物 ID 42）、クレブセラ・オキシトカ（微生物 ID 45）は 16S rRNA 遺伝子配列の類似性が高く、互いの区別が困難であり、特にエンテロバクター・クロアカ、クレブセラ・ニューモニエ、サルモネラ・パラチフィ A、サルモネラ・チフィ、クレブセラ・オキシトカは単独プローブによる区別が不可能であった。そのため、これら微生物をグループ C として、各微生物の各プローブに対する独自の検出シグナルパターンを検討した。その結果を表 63 に示す。その結果、各微生物の有する独自の検出シグナルパターンに基づいて、微生物を同定することができることがわかった。ただし、このうち、サルモネラ・パラチフィ A、サルモネラ・チフィの場合はいずれかの微生物が存在することを検出可能であった。

表 63

| | ID 18 微生物 | ID 25 微生物 | ID 41 微生物 | ID 42 微生物 | ID 45 微生物 | ID 08 微生物 | ID 22 微生物 | ID 19 微生物 | ID 24 微生物 |
|-----------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 18 v1プローブ | ◎ | ○(2) | × | × | ◎ | ○(3) | × | ○(2) | × |
| 18 v2プローブ | ◎ | ○(2) | ○(1) | ○(1) | ◎ | ◎ | ◎ | ○(1) | ○(1) |
| 18 v3プローブ | ◎ | × | ◎ | ◎ | × | × | × | × | × |
| 25 v1プローブ | ○(2) | ◎ | × | × | ○(2) | × | × | ◎ | × |
| 25 v2プローブ | ○(2) | ◎ | ○(3) | ○(3) | ○(2) | ○(2) | ○(2) | ○(1) | ○(3) |
| 25 v3プローブ | × | ◎ | × | × | ○(3) | × | × | × | × |
| 41 v1プローブ | × | × | ◎ | ○(1) | × | × | × | × | ○(1) |
| 41 v2プローブ | ○(1) | ○(3) | ◎ | ◎ | ○(1) | ○(1) | ○(1) | ○(2) | ○(2) |
| 41 v3プローブ | ◎ | × | ◎ | ◎ | × | × | × | × | × |
| 42 v1プローブ | × | × | ○(1) | ◎ | × | × | × | × | ○(2) |
| 42 v2プローブ | ○(1) | ○(3) | ◎ | ◎ | ○(1) | ○(1) | ○(1) | ○(2) | ○(2) |
| 42 v3プローブ | ◎ | × | ◎ | ◎ | × | × | × | × | × |
| 45 v1プローブ | ◎ | ○(2) | × | × | ◎ | ○(3) | × | ○(2) | × |
| 45 v2プローブ | ◎ | ○(2) | ○(1) | ○(1) | ◎ | ◎ | ◎ | ○(1) | ○(1) |
| 45 v3プローブ | × | ○(3) | × | × | ◎ | × | × | × | × |
| 08 v1プローブ | ○(3) | × | × | × | ○(3) | ◎ | × | × | × |
| 08 v2プローブ | ◎ | ○(2) | ○(1) | ○(1) | ◎ | ◎ | ◎ | ○(1) | ○(1) |
| 08 v3プローブ | × | × | × | × | × | ◎ | × | × | × |
| 22 v1プローブ | × | × | × | × | × | × | ◎ | × | × |
| 22 v2プローブ | ◎ | ○(2) | ○(1) | ○(1) | ◎ | ◎ | ◎ | ○(1) | ○(1) |
| 22 v3プローブ | × | × | × | × | × | × | ◎ | × | × |
| 19 v1プローブ | ○(2) | ◎ | × | × | ○(2) | × | × | ◎ | × |
| 19 v2プローブ | ○(1) | ○(1) | ○(2) | ○(2) | ○(1) | ○(1) | ○(1) | ◎ | ○(2) |
| 19 v3プローブ | × | × | × | × | × | × | × | ◎ | × |
| 24 v1プローブ | × | × | ○(1) | ○(2) | × | × | × | × | ◎ |
| 24 v2プローブ | ○(1) | ○(3) | ○(2) | ○(2) | ○(1) | ○(1) | ○(1) | ○(2) | ◎ |
| 24 v3プローブ | × | × | × | × | × | × | × | × | ◎ |

◎は微生物とプローブの間の塩基配列にミスマッチがなくシグナル強度が強いもの

○は微生物とプローブの間の塩基配列に3個以下のミスマッチがありシグナル強度が強いもの、()内はミスマッチ数

×は微生物とプローブの間の塩基配列に4個以上のミスマッチがありシグナル強度が弱いもの

同様に、エンテロコッカス・フェシウム（微生物 ID 27）、ストレプトコッカス・サングイス（微生物 ID 28）、エンテロコッカス・ガリナルム（微生物 ID 38）、エンテロコッカス・カセリフラバス（微生物 ID 39）は 16S rRNA 遺伝子配列の類似性が高く、互いの区別が困難であり、特に、エンテロコッカス・ガリナルム、エンテロコッカス・カセリフラバスは区別が不可能であった。そのため、これら微生物をグループ D として、各微生物の各プローブに対する独自の検出シグナルパターンを検討した。その結果を表 64 に示す。その結果、各微生物の有する独自の検出シグナルパターンに基づいて、微生物を同定することができることがわかった。ただし、このうち、エンテロコッカス・ガリナルム、エンテロコッカス・カセリフラバスの場合はいずれかの微生物であることが検出可能であった。

表 64

| | ID 38 微生物 | ID 39 微生物 | ID 27 微生物 | ID 28 微生物 |
|-----------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 38 v1プローブ | ◎ | ○(1) | × | × |
| 38 v2プローブ | ◎ | ◎ | × | × |
| 38 v3プローブ | ◎ | ○(2) | ○(3) | × |
| 39 v1プローブ | ○(1) | ◎ | × | × |
| 39 v2プローブ | ◎ | ◎ | × | × |
| 39 v3プローブ | ○(2) | ◎ | ○(2) | × |
| 27 v1プローブ | × | × | ◎ | × |
| 27 v2プローブ | × | × | ◎ | × |
| 27 v3プローブ | ○(3) | ○(2) | ◎ | × |
| 28 v1プローブ | × | × | × | ◎ |
| 28 v2プローブ | × | × | × | ◎ |
| 28 v3プローブ | × | × | × | ◎ |

◎は微生物とプローブの間の塩基配列にミスマッチがなくシグナル強度が強いもの

○は微生物とプローブの間の塩基配列に3個以下のミスマッチがありシグナル強度が強いもの、()内はミスマッチ数

×は微生物とプローブの間の塩基配列に4個以上のミスマッチがありシグナル強度が弱いもの

同様に、ストレプトコッカス・コンステラータス（微生物 ID 21）、ストレプトコッカス・アンギノサス（微生物 ID 23）、ストレプトコッカス・インターメディウス（微生物 ID 30）は同属であり、16S rRNA 遺伝子配列の類似性が高く、互いの区別が困難であり、特にストレプトコッカス・インターメディウスは単独プローブによる区別が不可能であった。そのため、これら微生物をグループ E として、各微生物の各プローブに対する独自の検出シグナルパターンを検討した。その結果を表 65 に示す。その結果、各微生物の有する独自の検出シグナルパターンに基づいて、微生物を同定することができることがわかった。

表 65

| | ID 30 微生物 | ID 21 微生物 | ID 23 微生物 |
|-----------|--------------|--------------|--------------|
| 30 v1プローブ | ◎ | ◎ | × |
| 30 v2プローブ | ◎ | ◎ | × |
| 30 v3プローブ | ◎ | × | ◎ |
| 21 v1プローブ | ◎ | ◎ | × |
| 21 v2プローブ | ◎ | ◎ | × |
| 21 v3プローブ | × | ◎ | × |
| 23 v1プローブ | × | × | ◎ |
| 23 v2プローブ | × | × | ◎ |
| 23 v3プローブ | ◎ | × | ◎ |

◎は微生物とプローブの間の塩基配列にミスマッチがなくシグナル強度が強いもの

○は微生物とプローブの間の塩基配列に3個以下のミスマッチがありシグナル強度が強いもの、()内はミスマッチ数

×は微生物とプローブの間の塩基配列に4個以上のミスマッチがありシグナル強度が弱いもの

以上のように、本発明のプローブを用いることによって表 1 に示す微生物を検出及び／又は同定することが可能となった。また、その検出シグナルパターンが明らかになったので、その検出シグナルパターンをコンピュータ等の記憶分析媒体に予め登録させることによって、被検体の微生物を迅速に確実に検出、同定することができる。

本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

産業上の利用可能性

本発明の微生物の 16S rRNA 塩基配列のうち、特に特異性が高い V1、V2 及び V3 領域の塩基配列から設計したプローブを用い、被検体である微生物から抽出した核酸を鋳型として PCR 法によって増幅を行い、得られた増幅産物を解析することにより、医療及び食品等の分野において有害な細菌を特異的にかつ迅速に検出、同定することができる。

請求の範囲

1. アクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンス (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)、アシネトバクター・カルコアセチカス (*Acinetobacter calcoaceticus*)、ヘモフィルス・インフルエンザ (*Haemophilus influenzae*)、ステノトロフォモナス・マルトフィリア (*Stenotrophomonas maltophilia*)、プロテウス・ミラビリス (*Proteus mirabilis*)、ストレプトコッカス・ニューモニエ (*Streptococcus pneumoniae*)、シュードモナス・エルギノサ (*Pseudomonas aeruginosa*)、シトロバクター・フレンディ (*Citrobacter freundii*)、ベイヨネラ・パルブーラ (*Veillonella parvula*)、プロビデンシア・スチュアーティ (*Providencia stuartii*)、ナイセリア・ゴノローエ (*Neisseria gonorrhoeae*)、ストレプトコッカス・アガラクチエ (*Streptococcus agalactiae*)、モルガネラ・モルガニ (*Morganella morganii*)、バクテロイデス・フラジリス (*Bacteroides fragilis*)、スタフィロコッカス・ホミニス (*Staphylococcus hominis*)、スタフィロコッカス・ワルネリ (*Staphylococcus warneri*)、スタフィロコッカス・ヘモリティカス (*Staphylococcus haemolyticus*)、エンテロバクター・クロアカ (*Enterobacter cloacae*)、エンテロバクター・アエロゲネス (*Enterobacter aerogenes*)、スタフィロコッカス・エピデルミディス (*Staphylococcus epidermidis*)、ストレプトコッカス・コンステラータス (*Streptococcus constellatus*)、セラチア・マルセッセンス (*Serratia marcescens*)、ストレプトコッカス・アンギノサス (*Streptococcus anginosus*)、エシェリシア・コリ (*Escherichia coli*)、クレブセラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumoniae*)、エンテロコッカス・フェカリス (*Enterococcus faecalis*)、エンテロコッカス・フェシウム (*Enterococcus faecium*)、ストレプトコッカス・サンガイ (*Streptococcus sanguis*)、ストレプトコッカス・ミティス (*Streptococcus mitis*)、ストレプトコッカス・インターメディウス (*Streptococcus intermedius*)、リステリア・モノサイトゲネス (*Listeria monocytogenes*)、クロストリジウム・パーフリンゲンス (*Clostridium perfringens*)、コリネバクテリウム・アクアチウム (*Corynebacterium aquatium*)、ストレプトコッカス・オラリス (*Streptococcus*

oralis)、スタフィロコッカス・アウレウス (*Staphylococcus aureus*)、ナイセリア・メニンギチデイス (*Neisseria meningitidis*)、カンピロバクター・フェタス (*Campylobacter fetus*)、エンテロコッカス・ガリナルム (*Enterococcus gallinarum*)、エンテロコッカス・カセリフラバス (*Enterococcus casseliflavus*)、エロモナス・ハイドロフィラ (*Aeromonas hydrophila*)、サルモネラ・パラチフィ A (*Salmonella paratyphi A*)、サルモネラ・チフィ (*Salmonella typhi*)、ストレプトコッカス・エクイシミリリス (*Streptococcus equisimilis*)、ストレプトコッカス・カニス (*Streptococcus canis*)、クレブセラ・オキシトカ (*Klebsiella oxytoca*)、スタフィロコッカス・サプロフィティカス (*Staphylococcus saprophyticus*)、パスツレラ・ムルトシダ (*Pasteurella multocida*)、エイケネラ・コロデンス (*Eikenella corrodens*)、ストレプトコッカス・ピオゲネス (*Streptococcus pyogenes*)、モラキセラ・カタラリス (*Moraxella catarrhalis*)、レジオネラ・ニューモフィラ (*Legionella pneumophila*)、マイコバクテリウム・ツベルクロシス (*Mycobacterium tuberculosis*)、マイコバクテリウム・アビウム (*Mycobacterium avium*)、マイコバクテリウム・イントラセルラレ (*Mycobacterium intracellulare*)、マイコバクテリウム・カンサシ (*Mycobacterium kansasii*)、マイコバクテリウム・ゴルドネ (*Mycobacterium gordonae*) から選択される 1 又は複数の微生物を検出及び／又は同定するためのプローブであって、検出及び／又は同定すべき微生物の 16S rRNA の V1、V2 及び／又は V3 領域内の 20～100bp の各塩基配列又はその相補配列からなるプローブ。

2. 配列番号 1～152 で示される塩基配列またはその相補配列から選ばれる、請求項 1 に記載のプローブ。

3. 配列番号 1、2 又は 3 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、アクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

4. 配列番号 4、5 又は 6 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、アシネトバクター・カルコアセチカスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

5. 配列番号 7、8 又は 9 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、

ヘモフィルス・インフルエンザを検出及び／又は同定するためのプローブ。

6. 配列番号 10、11 又は 12 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ステノトロフォモナス・マルトフィリアを検出及び／又は同定するためのプローブ。

7. 配列番号 13、14 又は 15 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、プロテウス・ミラビリスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

8. 配列番号 16、17 又は 18 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・ニューモニエを検出及び／又は同定するためのプローブ。

9. 配列番号 19、20 又は 21 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、シュードモナス・エルギノサを検出及び／又は同定するためのプローブ。

10. 配列番号 22、23 又は 24 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、シトロバクター・フレンディを検出及び／又は同定するためのプローブ。

11. 配列番号 25、26 又は 27 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ベイヨネラ・パルブーラを検出及び／又は同定するためのプローブ。

12. 配列番号 28、29 又は 30 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、プロビデンシア・スチュアーティを検出及び／又は同定するためのプローブ。

13. 配列番号 31、32 又は 33 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ナイセリア・ゴノローエを検出及び／又は同定するためのプローブ。

14. 配列番号 34、35 又は 36 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・アガラクチエを検出及び／又は同定するためのプローブ。

15. 配列番号 37、38 又は 39 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、モルガネラ・モルガニを検出及び／又は同定するためのプローブ。

16. 配列番号 40、41 又は 42 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、バクテロイデス・フラジリスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

17. 配列番号 43、44 又は 45 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、スタフィロコッカス・ホミニスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

18. 配列番号 46、47 又は 48 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、スタフィロコッカス・ワルネリを検出及び／又は同定するためのプローブ。

19. 配列番号 49、50 又は 51 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、スタフィロコッカス・ヘモリティカスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

20. 配列番号 52、23 又は 53 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エンテロバクター・クロアカを検出及び／又は同定するためのプローブ。

21. 配列番号 54、55 又は 56 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エンテロバクター・アエロゲネスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

22. 配列番号 57、58 又は 59 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、スタフィロコッカス・エピデルミジスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

23. 配列番号 60、61 又は 62 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・コンステラータスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

24. 配列番号 63、23 又は 64 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、セラチア・マルセッセンスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

25. 配列番号 65、66 又は 67 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・アンギノサスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

26. 配列番号 68、69 又は 70 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エシェリシア・コリを検出及び／又は同定するためのプローブ。

27. 配列番号 54、71 又は 72 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、クレブセラ・ニューモニエを検出及び／又は同定するためのプローブ。

28. 配列番号 73、74 又は 75 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エンテロコッカス・フェカリスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

29. 配列番号 76、77 又は 78 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エンテロコッカス・フェシウムを検出及び／又は同定するためのプローブ。

30. 配列番号 79、80 又は 81 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・サングイスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

31. 配列番号 82、83 又は 18 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む

む、ストレプトコッカス・ミティスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

3 2. 配列番号 60、84 又は 67 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・インターメディウスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

3 3. 配列番号 85、86 又は 87 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、リステリア・モノサイトゲネスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

3 4. 配列番号 88、89 又は 90 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、クロストリジウム・パーフリンゲンスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

3 5. 配列番号 91、92 又は 93 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、コリネバクテリウム・アクアチウムを検出及び／又は同定するためのプローブ。

3 6. 配列番号 94、95 又は 18 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・オラリスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

3 7. 配列番号 96、97 又は 98 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、スタフィロコッカス・アウレウスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

3 8. 配列番号 99、100 又は 101 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ナイセリア・メニンギチデイスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

3 9. 配列番号 102、103 又は 104 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、カンピロバクター・フェタスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

4 0. 配列番号 105、106 又は 107 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エンテロコッカス・ガリナルムを検出及び／又は同定するためのプローブ。

4 1. 配列番号 108、106 又は 109 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エンテロコッカス・カセリフラバスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

4 2. 配列番号 110、111 又は 112 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エロモナス・ハイドロフィラを検出及び／又は同定するためのプローブ。

4 3. 配列番号 113、114 又は 53 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、サルモネラ・パラチフィ A を検出及び／又は同定するためのプローブ。

44. 配列番号 115、114 又は 53 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、サルモネラ・チフィを検出及び／又は同定するためのプローブ。

45. 配列番号 116、117 又は 118 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・エクイシミスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

46. 配列番号 119、120 又は 121 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・カニスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

47. 配列番号 52、23 又は 122 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、クレブセラ・オキシトカを検出及び／又は同定するためのプローブ。

48. 配列番号 46、123 又は 124 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、スタフィロコッカス・サプロフィティカスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

49. 配列番号 125、126 又は 127 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、パスツレラ・ムルトシダを検出及び／又は同定するためのプローブ。

50. 配列番号 128、129 又は 130 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、エイケネラ・コロデンスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

51. 配列番号 131、132 又は 133 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、ストレプトコッカス・ピオゲネスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

52. 配列番号 134、135 又は 136 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、モラキセラ・カタラリスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

53. 配列番号 137、138 又は 139 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、レジオネラ・ニューモフィラを検出及び／又は同定するためのプローブ。

54. 配列番号 140、141 又は 142 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、マイコバクテリウム・ツベルクロシスを検出及び／又は同定するためのプローブ。

55. 配列番号 143、144 又は 145 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、マイコバクテリウム・アビウムを検出及び／又は同定するためのプローブ。

56. 配列番号 146、147 又は 145 に示される塩基配列、又はその相補配列を

含む、マイコバクテリウム・イントラセルラレを検出及び／又は同定するためのプローブ。

57. 配列番号 148、149 又は 145 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、マイコバクテリウム・カンサシを検出及び／又は同定するためのプローブ。

58. 配列番号 150、151 又は 152 に示される塩基配列、又はその相補配列を含む、マイコバクテリウム・ゴールドネを検出及び／又は同定するためのプローブ。

59. 複数の微生物の 16S rRNA の塩基配列における相同性検索によって、それぞれの微生物における V1、V2、V3 領域を特定し、該 V1、V2、V3 領域の塩基配列において 2 種以上の微生物間で比較してミスマッチ部位を決定し、該ミスマッチ部位を含み、かつ塩基長が 20～100bp の領域を決定することを含む、プローブの設計方法。

60. 請求項 1 又は 2 に記載のプローブの 1 種以上を用いることを特徴とする、アクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンス、アシネトバクター・カルコアセチカス、ヘモフィルス・インフルエンザ、ステノトロフォモナス・マルトフィリア、プロテウス・ミラビリス、ストレプトコッカス・ニューモニエ、シールドモナス・エルギノサ、シトロバクター・フレンディ、ベイヨネラ・パルブーラ、プロビデンシア・スチュアーティ、ナイセリア・ゴノローエ、ストレプトコッカス・アガラクチエ、モルガネラ・モルガニ、バクテロイデス・フラジリス、スタフィロコッカス・ホミニス、スタフィロコッカス・ワルネリ、スタフィロコッカス・ヘモリティカス、エンテロバクター・クロアカ、エンテロバクター・アエロゲネス、スタフィロコッカス・エピデルミディス、ストレプトコッカス・コンステラータス、セラチア・マルセッセンス、ストレプトコッカス・アンギノサス、エシェリシア・コリ、クレブセラ・ニューモニエ、エンテロコッカス・フェカリス、エンテロコッカス・フェシウム、ストレプトコッカス・サングイス、ストレプトコッカス・ミティス、ストレプトコッカス・インターメディウス、リステリア・モノサイトゲネス、クロストリジウム・パーフリンゲンス、コリネバクテリウム・アクアチウム、ストレプトコッカス・オラリス、スタフィロコッカス・アウレウス、ナイセリア・メニンギチディス、カンピロバクター・フェタス、エンテロコッカス・ガリナルム、エンテロコッカス・カセリフラバス、エロモナス・

ハイドロフィラ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・チフィ、ストレプトコッカス・エキシミリス、ストレプトコッカス・カニス、クレブセラ・オキシトカ、スタフィロコッカス・サプロフィティカス、パスツレラ・ムルトシダ、エイケネラ・コロデンス、ストレプトコッカス・ピオゲネス、モラキセラ・カタラリス、レジオネラ・ニューモフィラ、マイコバクテリウム・ツベルクロシス、マイコバクテリウム・アビウム、マイコバクテリウム・イントラセルラレ、マイコバクテリウム・カンサシ、マイコバクテリウム・ゴルドネから選択される1又は複数の微生物の検出及び／又は同定方法。

6 1. 微生物由来の塩基配列とプローブの塩基配列間でミスマッチが4個以上ある場合にハイブリダイズしないストリンジェンシー条件を用いて両配列をハイブリダイズさせることを含む、請求項6 0に記載の方法。

6 2. 同定すべき微生物の16S rRNAのV1、V2及びV3領域内の20～100bpの塩基配列又はその相補配列からなるプローブの塩基配列とのミスマッチが3個以下である塩基配列を有する2種以上の微生物を検出し、該2種以上の微生物と異なる微生物のV1、V2及びV3領域内の20～100bpの塩基配列又はその相補配列からなるプローブの1種以上を用い、該2種以上の微生物のうち1種の微生物をさらに同定することを含む、請求項6 0又は6 1に記載の方法。

6 3. 以下の工程：(a)同定すべき微生物から核酸を調製する工程、(b)該核酸を請求項1又は2に記載のプローブとハイブリダイズさせる工程、(c)工程(b)におけるハイブリダイズの有無を検出し、各プローブに対するその検出シグナルパターンを特定する工程、(d)工程(c)において得られた検出シグナルパターンと、予め特定しておいた微生物の検出シグナルパターンとを比較して同定すべき微生物の種類を特定する工程、からなる請求項6 0又は6 1に記載の方法。

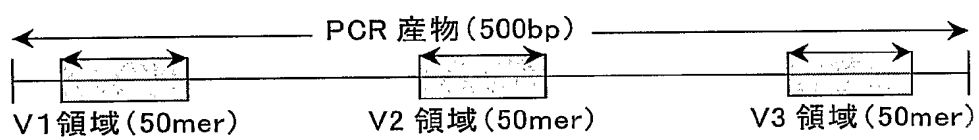
6 4. 配列番号153及び154で示されるプライマーを用いて標的配列を含むヌクレオチドを増幅した後にプローブとハイブリダイズさせる、請求項6 0～6 3のいずれか1項に記載の方法。

6 5. 標的配列を含むヌクレオチドの増幅の際に、蛍光物質を用いて標識を行う、請求項6 0～6 4のいずれか1項に記載の方法。

6 6. DNAチップ上で検出する、請求項6 0～6 5のいずれか1項に記載の

方法。

図 1



SEQUENCE LISTING

<110> A probe for identifying a microorganism and a method for identifying a microorganism using the same

<120> Hitachi Software Engineering Co., Ltd.
Mitsubishi Kagaku Bio-Clinical Laboratories, Inc.

<130> PH-1819-PCT

<150> JP 2002-174564

<151> 2002-06-14

<160> 154

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 50

<212> DNA

<213> Actinobacillus actinomycetemcomitans

<400> 1

ggacggtagc aggagaaagc ttgcttttctt gctgacgagt ggcggacggg

50

<210> 2

<211> 50

<212> DNA

<213> Actinobacillus actinomycetemcomitans

<400> 2

gctaataaccg cgtagggtcg ggagacgaaa gtgcgggact ttatggccgc 50

<210> 3

<211> 50

<212> DNA

<213> Actinobacillus actinomycetemcomitans

<400> 3

ggtattgagg aaggttggtg tgtaataagc atgccaaatt gacgttaaatt 50

<210> 4

<211> 50

<212> DNA

<213> Acinetobacter calcoaceticus

<400> 4

aagtcgagcg gactgatggt gcttgacta tcacttagcg gcggacgggt 50

<210> 5

<211> 50

<212> DNA

<213> Acinetobacter calcoaceticus

<400> 5

ggagaaagca ggggatcttc ggaccttgcg ctaatagatg agcctaagtc 50

<210> 6

<211> 50

<212> DNA

<213> Acinetobacter calcoaceticus

<400> 6

ctttaagcga ggaggaggct actgaagtta ataccttcag atagtggacg 50

<210> 7

<211> 50

<212> DNA

<213> Haemophilus influenzae

<400> 7

gaacggtagc aggagaaagc ttgctttctt gctgacgagt ggccggacggg 50

<210> 8

<211> 50

<212> DNA

<213> Haemophilus influenzae

<400> 8

atgaaagtgc gggactgaga ggccgcatgc cataggatga gcccaagtgg 50

<210> 9

<211> 50

<212> DNA

<213> Haemophilus influenzae

<400> 9

ggtattgagg atggttgatg tgttaatagc acatcaaatt gacgttaaatt 50

<210> 10

<211> 50

<212> DNA

<213> *Stenotrophomonas maltophilia*

<400> 10

cgaacggcag cacaggagag cttgctctct gggtagcgag tggcggacgg 50

<210> 11

<211> 50

<212> DNA

<213> *Stenotrophomonas maltophilia*

<400> 11

cgctaatacc gcatacgacc tacgggtgaa agcaggggat cttcggacct 50

<210> 12

<211> 50

<212> DNA

<213> *Stenotrophomonas maltophilia*

<400> 12

tgttgggaaa gaaatccagc tggtaatac ccggttgga tgacgtacc 50

<210> 13

<211> 50

<212> DNA

<213> *Proteus mirabilis*

<400> 13

agcggtaaca ggagaaagct tgctttcttg ctgacgagcg gcggacgggt

50

<210> 14

<211> 50

<212> DNA

<213> *Proteus mirabilis*

<400> 14

cggaccaaag caggggctct tcggaccttg cactatcgga tgaaccata

50

<210> 15

<211> 50

<212> DNA

<213> *Proteus mirabilis*

<400> 15

agcggggagg aaggtgataa ggtaataacc cttgtcaatt gacgttaccc

50

<210> 16

<211> 50

<212> DNA

<213> *Streptococcus pneumoniae*

<400> 16

aagtagaacg ctgaaggagg agcttgcttc tctggatgag ttgcgaacgg

50

<210> 17

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus pneumoniae

<400> 17

aataccgcat aagagtggat gttgcatgac atttgcttaa aaggtgcact 50

<210> 18

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus pneumoniae

<400> 18

agaagaacga gtgtgagagt ggaaagttca cactgtgacg gtatcttacc 50

<210> 19

<211> 50

<212> DNA

<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 19

gtcgagcgga tgaagggggc ttgctcctgg attcagcggc ggacgggtga 50

<210> 20

<211> 50

<212> DNA

<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 20

gcgctaatac cgcatacgtc ctgagggaga aagtggggga tcttcggacc 50

<210> 21

<211> 50

<212> DNA

<213> *Pseudomonas aeruginosa*

<400> 21

tgggaggaag ggcagtaagt taataccttg ctgttttgac gttaccaaca 50

<210> 22

<211> 50

<212> DNA

<213> *Citrobacter freundii*

<400> 22

gaacggtagc acagaggagc ttgctccttg ggtgacgagt ggcggacggg 50

<210> 23

<211> 50

<212> DNA

<213> *Citrobacter freundii*

<400> 23

agctaatacc gcataacgtc gcaagaccaa agaggggggac cttcgggcct 50

<210> 24

<211> 50

<212> DNA

<213> *Citrobacter freundii*

<400> 24

tcagcgagga ggaaggcgct gtggttaata accgcagcga ttgacgttac 50

<210> 25

<211> 50

<212> DNA

<213> Veilonella parvula

<400> 25

cgaagagcga tggaagcttg cttctatcaa tcttagtggc gaacgggtga 50

<210> 26

<211> 50

<212> DNA

<213> Veilonella parvula

<400> 26

ctcggcatcg aggaaagatg aaaggtggcc tctatttata agctatcact 50

<210> 27

<211> 50

<212> DNA

<213> Veilonella parvula

<400> 27

gggacgaaag gccttcttgc gaacagttag aaggattgac ggtaccggaa 50

<210> 28

<211> 50

<212> DNA

<213> Providencia stuartii

<400> 28

gtcgagcgggt aacaggggaa gcttgcttct cgtgacgag cggcggacgg 50

<210> 29

<211> 50

<212> DNA

<213> Providencia stuartii

<400> 29

gggaccttcg ggccttgccg tgcggatga accatatgg gattagctag 50

<210> 30

<211> 50

<212> DNA

<213> Providencia stuartii

<400> 30

tcagtcggga ggaaggcgtt gatgttaata ccatcaacga ttgacgttac 50

<210> 31

<211> 50

<212> DNA

<213> Neisseria gonorrhoeae

<400> 31

cggacggcag cacaggaag cttgcttctc ggtggcgag tggcgaacgg 50

<210> 32

<211> 50

<212> DNA

<213> *Neisseria gonorrhoeae*

<400> 32

agctaatacc gcatacgtct tgagagggaa agcaggggac cttcgggcct 50

<210> 33

<211> 50

<212> DNA

<213> *Neisseria gonorrhoeae*

<400> 33

tcagggaaga aaaggccggtt gccaatatcg gcggccgatg acggtacctg 50

<210> 34

<211> 50

<212> DNA

<213> *Streptococcus agalactiae*

<400> 34

tcagggaaga aaaggccggtt gccaatatcg gcggccgatg acggtacctg 50

<210> 35

<211> 50

<212> DNA

<213> *Streptococcus agalactiae*

<400> 35

aataccgcat aagagtaatt aacacatggt agttatttaa aaggagcaat 50

<210> 36

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus agalactiae

<400> 36

tgttagagaa gaacgttggt aggagtggaa aatctaccaa gtgacggtaa 50

<210> 37

<211> 50

<212> DNA

<213> Morganella morganii

<400> 37

ggcggtaaca gggggaagct tgcttctctg ctgacgagcg gcggacgggt 50

<210> 38

<211> 50

<212> DNA

<213> Morganella morganii

<400> 38

agctaatacc gcataatgtc ttccggaccaa agcgggggac ctccgggcct 50

<210> 39

<211> 50

<212> DNA

<213> Morganella morganii

<400> 39

gtcgggagga aggtgtcaag gttaataacc ttggcaattg acgttaccga 50

<210> 40

<211> 50

<212> DNA

<213> Bacteroides fragilis

<400> 40

catgcaagtc gaggggcac aggaagaaag cttgctttct ttgctggcga 50

<210> 41

<211> 50

<212> DNA

<213> Bacteroides fragilis

<400> 41

gaaagattaa taccgatag cataatgatt ccgcatgggtt tcattattaa 50

<210> 42

<211> 50

<212> DNA

<213> Bacteroides fragilis

<400> 42

gtagcgtgaa ggatgaaggc tctatgggtc gtaaacttct tttatataag 50

<210> 43

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus hominis

<400> 43

gagcgaacag acgaggagct tgctcctttg acgttagcgg cggacgggtg 50

<210> 44

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus hominis

<400> 44

ataccggata atatttcgaa ccgcatgggt cgatagttaa agatggcttt 50

<210> 45

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus hominis

<400> 45

ttattaggga agaacaaacg tgtaagtaac tgtgcacgtc ttgacggtac 50

<210> 46

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus warneri

<400> 46

gagcgaacag ataaggagct tgctcctttg acgttagcgg cggacgggtg 50

<210> 47

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus warneri

<400> 47

taccggataa catattgaac cgcatgggtc aatagtgaaa ggcggctttg 50

<210> 48

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus warneri

<400> 48

ttatcaggga agaacaaatg tgtaagtaac tgtgcacatc ttgacggtac 50

<210> 49

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus haemolyticus

<400> 49

gagcgaacag acaaggagct tgctcctttg acgttagcgg cggacgggtg 50

<210> 50

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus haemolyticus

<400> 50

ttcgaaccgc atggttcgat agtgaaagat ggttttgcta tcacttatag 50

<210> 51

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus haemolyticus

<400> 51

ttattaggga agaacatacg tgtaagtaac tatgcacgtc ttgacggtag 50

<210> 52

<211> 50

<212> DNA

<213> Enterobacter cloacae

<400> 52

agtcgaacgg tagcacagag agcttgctct cgggtgacga gtggcggacg 50

<210> 53

<211> 50

<212> DNA

<213> Enterobacter cloacae

<400> 53

cggggaggaa ggtgttgtgg ttaataaccg cagcaattga cgttaccgcg 50

<210> 54

<211> 50

<212> DNA

<213> Enterobacter aerogenes

<400> 54

agtcgagcgg tagcacagag agcttgctct cgggtgacga gcggcggacg 50

<210> 55

<211> 50

<212> DNA

<213> Enterobacter aerogenes

<400> 55

agctaatacc gcataacgtc gcaagaccaa agtgggggac cttcgggcct 50

<210> 56

<211> 50

<212> DNA

<213> Enterobacter aerogenes

<400> 56

agctaatacc gcataacgtc gcaagaccaa agtgggggac cttcgggcct 50

<210> 57

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus epidermidis

<400> 57

gagcgaacag acgaggagct tgctcctctg acgttagcgg cggacgggtg 50

<210> 58

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus epidermidis

<400> 58

taataaccgga taatatattg aaccgcatgg ttcaatagtg aaagacggtt 50

<210> 59

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus epidermidis

<400> 59

taataaccgga taatatattg aaccgcatgg ttcaatagtg aaagacggtt 50

<210> 60

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus constellatus

<400> 60

acaggatgca ccgtagttta ctacaccgta ttctgtgagt tgcgaacggg 50

<210> 61

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus constellatus

<400> 61

aataccgcat aagaacattt actgcatggt agatgtttaa aaggcgcaag 50

<210> 62

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus constellatus

<400> 62

ttgttaagga agaacgtgtg tgagagtgga aagttcacac agtgacggta 50

<210> 63

<211> 50

<212> DNA

<213> Serratia marcescens

<400> 63

agcggttagca caggggagct tgctccctgg gcgacgagcg gcggacgggt 50

<210> 64

<211> 50

<212> DNA

<213> Serratia marcescens

<400> 64

gaggaggaag gtggtgaact taatacgttc atcaattgac gttactcgca 50

<210> 65

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus anginosus

<400> 65

atgcaagtag gacgcacagt ttataccgta gcttgctaca ccatagactg 50

<210> 66

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus anginosus

<400> 66

atgcaagtag gacgcacagt ttataccgta gcttgctaca ccatagactg 50

<210> 67

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus anginosus

<400> 67

atgcaagtag gacgcacagt ttataccgta gcttgctaca ccatagactg 50

<210> 68

<211> 50

<212> DNA

<213> Escherichia coli

<400> 68

tcgaacggta acaggaagca gcttgctggtt ttgctgacga gtggcggacg 50

<210> 69

<211> 50

<212> DNA

<213> Escherichia coli

<400> 69

agctaatacc gcataacgtc gcaagaccaa agagggggac cttagggcct 50

<210> 70

<211> 50

<212> DNA

<213> Escherichia coli

<400> 70

cggagaggaa gggagtaaag ttaatacctt tgctcattga cgttaccgc 50

<210> 71

<211> 50

<212> DNA

<213> Klebsiella pneumoniae

<400> 71

agctaatacc gcataatgtc gcaagaccaa agtgggggac cttcgggcct 50

<210> 72

<211> 50

<212> DNA

<213> Klebsiella pneumoniae

<400> 72

tcagcgggga ggaaggcgat gaggttaata acctcatcga ttgacgttac 50

<210> 73

<211> 50

<212> DNA

<213> *Enterococcus faecalis*

<400> 73

atgcaagtcg aacgcttctt ttctcccgag tgcttgcaact caattggaaa 50

<210> 74

<211> 50

<212> DNA

<213> *Enterococcus faecalis*

<400> 74

ataccgcata acagtttatg ccgcatggca taagagtgaaggcgctttc 50

<210> 75

<211> 50

<212> DNA

<213> *Enterococcus faecalis*

<400> 75

ttagagaaga acaaggacgt tagtaactga acgtcccctg acggtatcta 50

<210> 76

<211> 50

<212> DNA

<213> *Enterococcus faecium*

<400> 76

atgcaagtcg aacgcttctt tttccaccgg agcttgctcc accggaaaaa

50

<210> 77

<211> 50

<212> DNA

<213> Enterococcus faecium

<400> 77

taataccgta taacaatcga aaccgcatgg ttttgatttg aaaggcgctt

50

<210> 78

<211> 50

<212> DNA

<213> Enterococcus faecium

<400> 78

gttgtttagag aagaacaagg atgagagtaa ctgttcatcc cttgacggta

50

<210> 79

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus sanguis

<400> 79

catgcaagta gaacgctgaa gagaggagct tgctcttctt ggatgagttg

50

<210> 80

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus sanguis

<400> 80

aataccgcat aaaattgatt attgcatgat aattaattga aagatgcaat 50

<210> 81

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus sanguis

<400> 81

agaagaacgg gtgtgagagt ggaaagttca cactgtgacg gtatcttacc 50

<210> 82

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus mitis

<400> 82

aagtagaacg ctgaaggagg agcttgcttc tccggatgag ttgcgaacgg 50

<210> 83

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus mitis

<400> 83

aataccgcat aagagtagat gttgcatgac atttgcttaa aaggtgcaat 50

<210> 84

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus intermedius

<400> 84

ctaataccgc ataagaacat ttactgcatg gtagatgttt aaaaggtgca 50

<210> 85

<211> 50

<212> DNA

<213> Listeria monocytogenes

<400> 85

gaacgaacgg aggaagagct tgctcttcca atgttagtgg cggacgggtg 50

<210> 86

<211> 50

<212> DNA

<213> Listeria monocytogenes

<400> 86

accgaatgat aaagtgtggc gcatgccacg cttttgaaag atggtttcgg 50

<210> 87

<211> 50

<212> DNA

<213> Listeria monocytogenes

<400> 87

ttagagaaga acaaggataa gagtaactgc ttgtcccttg acggtatcta 50

<210> 88

<211> 50

<212> DNA

<213> Clostridium perfringens

<400> 88

gcaagtcgag cgatgaagtt tccttcggga aacggattag cggcggacgg 50

<210> 89

<211> 50

<212> DNA

<213> Clostridium perfringens

<400> 89

tgaaagatgg catcatcatt taaccaaagg agcaatccgc tatgagatgg 50

<210> 90

<211> 50

<212> DNA

<213> Clostridium perfringens

<400> 90

ttcggatcgt aaagctctgt ctttggggaa gataatgacg gtaccaagg 50

<210> 91

<211> 50

<212> DNA

<213> Corynebacterium aquatium

<400> 91

caagtcgaac gatgaaccag gagcttgctc ttggggatta gtggcgaacg 50

<210> 92

<211> 50

<212> DNA

<213> Corynebacterium aquatium

<400> 92

gaactgcgaa ggcattcttca gcagttggaa agaacttcgg tcaaggatgg 50

<210> 93

<211> 50

<212> DNA

<213> Corynebacterium aquatium

<400> 93

gttgtaaacc tcttttagta gggaagaagc gaaagtgacg gtacctgcag 50

<210> 94

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus oralis

<400> 94

caagtagaac gctgaagctt ggtgcttgca ccgagcggat gagttgcgaa 50

<210> 95

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus oralis

<400> 95

taataaccgca taagagtaga tgttgcatga catttactta aaaggtgcaa 50

<210> 96

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 96

gagcgaacgg acgagaagct tgcttctctg atgttagcgg cggacgggtg 50

<210> 97

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 97

ttcaaaagtg aaagacgggc ttgctgtcac ttatagatgg atccgcgctg 50

<210> 98

<211> 50

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 98

ttattaggga agaacatatg tgtaagtaac tgtgcacatc ttgacggtac 50

<210> 99

<211> 50

<212> DNA

<213> Neisseria meningitidis

<400> 99

catgcaagtc ggacggcagc acagagaagc ttgcttcttg ggtggcgagt 50

<210> 100

<211> 50

<212> DNA

<213> Neisseria meningitidis

<400> 100

agctaatacc gcatacgtct tgagagagaa agcaggggat ctcgggcct 50

<210> 101

<211> 50

<212> DNA

<213> Neisseria meningitidis

<400> 101

gggaagaaaa ggctgttgct aatatcagcg gctgatgacg gtacctgaag 50

<210> 102

<211> 50

<212> DNA

<213> Campylobacter fetus

<400> 102

catgcaagtc gcacggagta ttaagagagc ttgctctttt aatacttagt 50

<210> 103

<211> 50

<212> DNA

<213> *Camphylobacter fetus*

<400> 103

aaatgactgc taatactcca tactccttct taacataagt taagtcggga 50

<210> 104

<211> 50

<212> DNA

<213> *Camphylobacter fetus*

<400> 104

ccgcgtggag gatgacactt ttcggagcgt aaactccttt tgttaggga 50

<210> 105

<211> 50

<212> DNA

<213> *Enterococcus gallinarum*

<400> 105

atgcaagtcg aacgcttttt ctttcaccgg agcttgctcc accgaaagaa 50

<210> 106

<211> 50

<212> DNA

<213> Enterococcus gallinarum

<400> 106

ttccgcatgg aagaaagttg aaaggcgctt ttgcgtcact gatggatgga 50

<210> 107

<211> 50

<212> DNA

<213> Enterococcus gallinarum

<400> 107

gttggttagag aagaacaagg atgagagtag aacgttcac ccttgacggt 50

<210> 108

<211> 50

<212> DNA

<213> Enterococcus casseliflavus

<400> 108

atgcaagtcg aacgcttttt ctttcaccgg agcttgctcc accggaagaa 50

<210> 109

<211> 50

<212> DNA

<213> Enterococcus casseliflavus

<400> 109

gttggttagag aagaacaagg atgagagtaa aatgttcac ccttgacggt 50

<210> 110

<211> 50

<212> DNA

<213> Aeromonas hydrophila

<400> 110

caagtcgagc ggcagcggga aagtagcttg ctacttttgc cggcgagcgg 50

<210> 111

<211> 50

<212> DNA

<213> Aeromonas hydrophila

<400> 111

tgctaatacc gcatacgccc tacgggggaa agcagggggac cttcgggcct 50

<210> 112

<211> 50

<212> DNA

<213> Aeromonas hydrophila

<400> 112

cgaggaggaa aggttgatgc ctaatacgta tcaactgtga cgttactcgc 50

<210> 113

<211> 50

<212> DNA

<213> Salmonella paratyphi A

<400> 113

tcgaacggta acaggaagca gcttgctgct ttgctgacga gtggcggacg 50

<210> 114

<211> 50

<212> DNA

<213> Salmonella paratyphi A

<400> 114

ggctaatacc gcataacgtc gcaagaccaa agagggggac cttcgggcct 50

<210> 115

<211> 50

<212> DNA

<213> Salmonella typhi

<400> 115

tcgaacggta acaggaagca acttgctgct ttgctgacga gtggcggacg 50

<210> 116

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus equisimilis

<400> 116

agtagaacgc tgaggactgg tgcttgacc ggtccaagga gttgcgaacg 50

<210> 117

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus equisimilis

<400> 117

aataccgcat aaaagtgttt aacccatgtt aaacatttaa aaggtgcaat 50

<210> 118

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus equisimilis

<400> 118

gagaagaatg atggtgggag tggaaaatcc accatgtgac ggtaactaac 50

<210> 119

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus canis

<400> 119

agtagaacgc tggagacagg tgcttgcaact agtctaagga gttgcgaacg 50

<210> 120

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus canis

<400> 120

ctaataccgc ataaaagtgc ttaacacatg ttaagaactt aaaaggggca 50

<210> 121

<211> 50

<212> DNA

<213> *Streptococcus canis*

<400> 121

gagaagaacg gtaatgggag tggaaaaccc attatgtgac ggtaactaac 50

<210> 122

<211> 50

<212> DNA

<213> *Klebsiella oxytoca*

<400> 122

agcggggagg aaggcgataa ggtaataaac cttgtogatt gacgttaccc 50

<210> 123

<211> 50

<212> DNA

<213> *Staphylococcus saprophyticus*

<400> 123

taataaccgga taacatttgg aaccgcatag ttctaaagtg aaagatggtt 50

<210> 124

<211> 50

<212> DNA

<213> *Staphylococcus saprophyticus*

<400> 124

ttattaggga agaacaaacg tgtaagtagc tgtgcacgtc ttgacggtac 50

<210> 125

<211> 50

<212> DNA

<213> Pasteurella multocida

<400> 125

agtcgaacgg tagcaggaag aaagcttgct ttctttgctg acgagtggcg 50

<210> 126

<211> 50

<212> DNA

<213> Pasteurella multocida

<400> 126

cagctaatac cgcgtattct ctgaggagga aagggtggga ccttagggcc 50

<210> 127

<211> 50

<212> DNA

<213> Pasteurella multocida

<400> 127

taatgaggaa gggatgttgt taaatagata gcatcattga cgtaattac 50

<210> 128

<211> 50

<212> DNA

<213> Eikenella corrodens

<400> 128

gaacggcagc ggggtagtgc ttgcactact gtccggcgag tggcgaacgg 50

<210> 129

<211> 50

<212> DNA

<213> Eikenella corrodens

<400> 129

gagaaagcgg gggatcgcaa gacctcgcggt tattcgagcg gccgataact 50

<210> 130

<211> 50

<212> DNA

<213> Eikenella corrodens

<400> 130

tagggaagaa aagggaagtg ctaataccac tttttgctga cggtagcctaa 50

<210> 131

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus pyogenes

<400> 131

agtagaacgc tgagaactgg tgcttgacc ggttcaagga gttgcgaacg 50

<210> 132

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus pyogenes

<400> 132

ctaataccgc ataagagaga ctaacgcatg ttagtaattt aaaaggggca 50

<210> 133

<211> 50

<212> DNA

<213> Streptococcus pyogenes

<400> 133

gagaagaatg atggtgggag tggaaaatcc accaagtgc ggtaactaac 50

<210> 134

<211> 50

<212> DNA

<213> Moraxella catarrhalis

<400> 134

gtcgaacgaa gttaggaage ttgttctga tacttagtgg cggacgggtg 50

<210> 135

<211> 50

<212> DNA

<213> Moraxella catarrhalis

<400> 135

tacgggtgaa agggggcttt tagctctcgc tattagatga gcctaagtcg 50

<210> 136

<211> 50

<212> DNA

<213> *Moraxella catarrhalis*

<400> 136

ggggaggaaa agcttatggt taatacccat aagccctgac gttaccaca 50

<210> 137

<211> 50

<212> DNA

<213> *Legionella pneumophila*

<400> 137

agtcgaacgg cagcattgtc tagcctgcta gacagatggc gagtggcgaa 50

<210> 138

<211> 50

<212> DNA

<213> *Legionella pneumophila*

<400> 138

acgaaagctg gggaccttcg ggcctggcgc ttttaagatta gcctgcgtcc 50

<210> 139

<211> 50

<212> DNA

<213> *Legionella pneumophila*

<400> 139

agtggggagg agggttgata ggtaagagc tgattaactg gacgttaccc

50

<210> 140

<211> 50

<212> DNA

<213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 140

gcaagtcgaa cggaaaggtc tcttcggaga tactcgagtg gcgaacgggt

50

<210> 141

<211> 50

<212> DNA

<213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 141

gatgcatgtc ttgtggtgga aagcgcttta gcggtgtggg atgagcccgc

50

<210> 142

<211> 50

<212> DNA

<213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 142

tttcaccatc gacgaaggtc cgggttctct cggattgacg gtaggtggag

50

<210> 143

<211> 50

<212> DNA

<213> Mycobacterium avium

<400> 143

gcaagtcgaa cggaaaggcc tcttcggagg tactcgagtg gcgaacgggt 50

<210> 144

<211> 50

<212> DNA

<213> Mycobacterium avium

<400> 144

ggtctaatac cggataggac ctcaagacgc atgtcttctg gtggaaagct 50

<210> 145

<211> 50

<212> DNA

<213> Mycobacterium avium

<400> 145

ggccttcggg ttgtaaacct ctttcaccat cgacgaaggt ccgggttttc 50

<210> 146

<211> 50

<212> DNA

<213> Mycobacterium intracellulare

<400> 146

gcaagtcgaa cggaaaggcc ccttcggggg tactcgagtg gcgaacgggt 50

<210> 147

<211> 50

<212> DNA

<213> *Mycobacterium intracellulare*

<400> 147

gggtctaatac cggataggac ctttaggcgc atgtcttttag gtggaaagct 50

<210> 148

<211> 50

<212> DNA

<213> *Mycobacterium kansasii*

<400> 148

gcaagtcgaa cggaaaggtc tcttcggaga cactcgagtg gcgaacgggt 50

<210> 149

<211> 50

<212> DNA

<213> *Mycobacterium kansasii*

<400> 149

gggtctaatac cggataggac cacttggcgc atgccttggtg gtggaaagct 50

<210> 150

<211> 50

<212> DNA

<213> *Mycobacterium gordonae*

<400> 150

atgcaagtcg aacggtaagg cccttcgggg tacacgagtg gcgaacgggt 50

<210> 151

<211> 50

<212> DNA

<213> *Mycobacterium gordonae*

<400> 151

actgggtcta ataccgaata ggaccacagg acacatgtcc tgtggtggaa 50

<210> 152

<211> 50

<212> DNA

<213> *Mycobacterium gordonae*

<400> 152

ttcaccatcg acgaaggtec gggttttctc gggctgacgg taggtggaga 50

<210> 153

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic DNA

<400> 153

agagtttgat cctggctcag 20

<210> 154

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic DNA

<400> 154

gtattaccgc ggctgctggc ag

22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/07620

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/09, C12Q1/68, G01N33/53, 33/569, 37/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/09, C12Q1/68, G01N33/53, 33/569, 37/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

PubMed, BIOSIS/WPI (DIALOG), JSTPlus (JOIS), GenBank/EMBL/DBJ/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| Y | Kaplan JB, et al., Population structure and genetic diversity of <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> strains isolated from localized juvenile periodontitis patients., J.Clin.Microbiol., 2002 April, Vol.40, No.4, pages 1181 to 1187 | 1-3, 59-63, 65, 66 |
| Y | Hedegaard J. et al., Phylogeny of the genus <i>Haemophilus</i> as determined by comparison of partial infB sequences., Microbiology, 2001 September, Vol.147, pages 2599 to 2609 | 1-3, 59-63, 65, 66 |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

| | |
|---|--|
| * Special categories of cited documents: | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone |
| "E" earlier document but published on or after the international filing date | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | "&" document member of the same patent family |
| "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means | |
| "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | |

Date of the actual completion of the international search
09 September, 2003 (09.09.03)

Date of mailing of the international search report
24 September, 2003 (24.09.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/07620

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| Y | Tran SD et al., Improved multiplex PCR using conserved and species-specific 16S rRNA gene primers for simultaneous detection of <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> , <i>Bacteroides forsythus</i> , and <i>Porphyromonas gingivalis</i> ., J.Clin. Microbiol., 1999 November, Vol.37, No.11, pages 3504 to 3508 | 1-3, 59-63, 65, 66 |
| Y | Hughes MS et al., Identification by 16S rRNA gene analyses of a potential novel mycobacterial species as an etiological agent of canine leproid granuloma syndrome., J.Clin.Microbiol., 2000 March, Vol.38, No.3, pages 953 to 959 | 1-3, 59-63, 65, 66 |
| Y | Peters S. et al., Succession of microbial communities during hot composting as detected by PCR-single-strand-conformation polymorphism-based genetic profiles of small-subunit rRNA genes., Appl.Environ.Microbiol., 2000 March, Vol.66, No.3, pages 930 to 936 | 1-3, 59-63, 65, 66 |
| Y | Randazzo CL et al., Diversity, dynamics, and activity of bacterial communities during production of an artisanal Sicilian cheese as evaluated by 16S rRNA analysis., Appl.Environ.Microbiol., 2002 April, Vol.68, No.4, pages 1882 to 1892 | 1-3, 59-63, 65, 66 |
| Y | Schmalenberger A. et al., Effect of primers hybridizing to different evolutionarily conserved regions of the small-subunit rRNA gene in PCR-based microbial community analyses and genetic profiling., Appl.Environ.Microbiol., 2001 August, Vol.67, No.8, pages 3557 to 3563 | 1-3, 59-63, 65, 66 |
| Y | Simpson JM. et al., Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S ribosomal DNA amplicons to monitor changes in fecal bacterial populations of weaning pigs after introduction of <i>Lactobacillus reuteri</i> strain MM53., Appl.Environ. Microbiol., 2000 November, Vol.66, No.11, pages 4705 to 4714 | 1-3, 59-63, 65, 66 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/07620

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
(See extra sheet)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
(See extra sheet)

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/07620

Continuation of Box No.II of continuation of first sheet(1)

References:

1. Hughes MS, et al., Identification by 16S rRNA gene analyses of a potential novel mycobacterial species as an etiological agent of canine leproid granuloma syndrome. J Clin Microbiol. 2000 Mar, vol.38, no.3, p.953-959
2. Peters S, et al., Succession of microbial communities during hot composting as detected by PCR-single-strand-conformation polymorphism-based genetic profiles of small-subunit rRNA genes. Appl Environ Microbiol. 2000 Mar, vol.66, no.3, p.930-936
3. Randazzo CL, et al., Diversity, dynamics, and activity of bacterial communities during production of an artisanal Sicilian cheese as evaluated by 16S rRNA analysis. Appl. Environ Microbiol. 2002 Apr, vol.68, no.4, p.1882-1892
4. Schmalenberger A, et al., Effect of primers hybridizing to different evolutionarily conserved regions of the small-subunit rRNA gene in PCR-based microbial community analyses and genetic profiling. Appl Environ Microbiol. 2001 Aug, vol.67, no.9, p.3557-3563
5. Simpson JM, et al., Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S ribosomal DNA amplicons to monitor changes in fecal bacterial populations of weaning pigs after introduction of *Lactobacillus reuteri* strain MM53. Appl Environ Microbiol. 2000 Nov, vol.66, no.11, p.4705-4714

In the references 1 to 5, it is described that various microorganisms were detected by using probes or primers corresponding to the V1, V2 and V3 regions of 16S rRNA.

Thus, detection of 56 microorganisms as set forth in claims of the present case with the use of probes corresponding to the V1, V2 and V3 regions of 16S rRNA cannot be considered as having a technical relationship involving the same "special technical features". (The expression "special technical features" as used herein means those technical features that define a contribution which each of the claimed inventions, considered as a whole, makes over the prior art. (See, if necessary, Patent Corporation Treaty, Rule 13.2)). Although the statement in the description of the present case is taken into consideration, no other "special technical feature" can be confirmed or seen.

Thus, the probes corresponding respectively to the 56 microorganisms cannot be considered as relating to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept. Such being the case, the present application has 56 inventions corresponding to the 56 microorganisms as set forth in the claims.

Continuation of Box No.II-4 of continuation of first sheet(1)

Since no required additional fee was paid, this international search report was made exclusively on the invention as set forth in claim 3 and the inventions relating to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* among the inventions as set forth in claims 1, 2, 59 to 63, 65 and 66.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int Cl⁷ C12N 15/09, C12Q 1/68, G01N 33/53, 33/569, 37/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int Cl⁷ C12N 15/09, C12Q 1/68, G01N 33/53, 33/569, 37/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

PubMed, BIOSIS/WPI (DIALOG), JSTPlus (JOIS), GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|-----------------------|
| Y | Kaplan JB, et al., Population structure and genetic diversity of <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> strains isolated from localized juvenile periodontitis patients. J Clin Microbiol. 2002 Apr, vol.40, no.4, p.1181-1187 | 1-3, 59-63, 65, 66 |
| Y | Hedegaard J, et al., Phylogeny of the genus <i>Haemophilus</i> as determined by comparison of partial <i>infB</i> sequences. Microbiology. 2001 Sep, vol.147, p.2599-2609 | 1-3, 59-63, 65, 66 |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09.09.03

国際調査報告の発送日

24.09.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

小暮 道明



4B

9358

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | |
|-----------------------|---|-----------------------|
| 引用文献の カテゴリ* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| Y | Tran SD, et al., Improved multiplex PCR using conserved and species-specific 16S rRNA gene primers for simultaneous detection of <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> , <i>Bacteroides forsythus</i> , and <i>Porphyromonas gingivalis</i> . J Clin Microbiol. 1999 Nov, vol.37, no.11, p.3504-3508 | 1-3, 59-63, 65, 66 |
| Y | Hughes MS, et al., Identification by 16S rRNA gene analyses of a potential novel mycobacterial species as an etiological agent of canine leproid granuloma syndrome. J Clin Microbiol. 2000 Mar, vol.38, no.3, p.953-959 | 1-3, 59-63, 65, 66 |
| Y | Peters S, et al., Succession of microbial communities during hot composting as detected by PCR-single-strand-conformation polymorphism-based genetic profiles of small-subunit rRNA genes. Appl Environ Microbiol. 2000 Mar, vol.66, no.3, p.930-936 | 1-3, 59-63, 65, 66 |
| Y | Randazzo CL, et al., Diversity, dynamics, and activity of bacterial communities during production of an artisanal Sicilian cheese as evaluated by 16S rRNA analysis. Appl Environ Microbiol. 2002 Apr, vol.68, no.4, p.1882-1892 | 1-3, 59-63, 65, 66 |
| Y | Schmalenberger A, et al., Effect of primers hybridizing to different evolutionarily conserved regions of the small-subunit rRNA gene in PCR-based microbial community analyses and genetic profiling. Appl Environ Microbiol. 2001 Aug, vol.67, no.8, p.3557-3563 | 1-3, 59-63, 65, 66 |
| Y | Simpson JM, et al., Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S ribosomal DNA amplicons to monitor changes in fecal bacterial populations of weaning pigs after introduction of <i>Lactobacillus reuteri</i> strain MM53. Appl Environ Microbiol. 2000 Nov, vol.66, no.11, p.4705-4714 | 1-3, 59-63, 65, 66 |

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

(特別ページ) 参照。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

(特別ページ) 参照。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

参照文献：

1. Hughes MS, et al., Identification by 16S rRNA gene analyses of a potential novel mycobacterial species as an etiological agent of canine leproid granuloma syndrome.
J Clin Microbiol. 2000 Mar, vol.38, no.3, p.953-959
2. Peters S, et al., Succession of microbial communities during hot composting as detected by PCR-single-strand-conformation polymorphism-based genetic profiles of small-subunit rRNA genes.
Appl Environ Microbiol. 2000 Mar, vol.66, no.3, p.930-936
3. Randazzo CL, et al., Diversity, dynamics, and activity of bacterial communities during production of an artisanal Sicilian cheese as evaluated by 16S rRNA analysis.
Appl Environ Microbiol. 2002 Apr, vol.68, no.4, p.1882-1892
4. Schmalenberger A, et al., Effect of primers hybridizing to different evolutionarily conserved regions of the small-subunit rRNA gene in PCR-based microbial community analyses and genetic profiling.
Appl Environ Microbiol. 2001 Aug, vol.67, no.8, p.3557-3563
5. Simpson JM, et al., Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S ribosomal DNA amplicons to monitor changes in fecal bacterial populations of weaning pigs after introduction of *Lactobacillus reuteri* strain MM53.
Appl Environ Microbiol. 2000 Nov, vol.66, no.11, p.4705-4714

参照文献1-5には、16S rRNAのV1、V2及びV3領域に対応するプローブ若しくはプライマーを用いて様々な微生物を検出することが記載されている。

したがって、本願の請求の範囲に記載された56種類の微生物に関して、16S rRNAのV1、V2及びV3領域に対応するプローブを用いてそれぞれを検出することは、同一の「特別な技術的特徴」を含む技術的な関係を有しているものとはいえない。（なお、ここで言う、「特別な技術的特徴」とは、請求の範囲に記載された各発明が全体として「先行技術」に対して行う貢献を明示する技術的特徴のことである。（必要なら、特許協力条約に基づく規則13.2参照。））また、本願明細書の記載を参酌しても、それ以外の「特別な技術的特徴」の存在は確認も推認もできない。

よって、上述した56種類の微生物に対応するプローブどうしは、単一の一般的発明概念を形成するように関連している一群の発明であるとはいえない。この出願には、請求の範囲に記載された56種類の微生物に対応した、56個の発明が包含されているといえる。

そして、追加手数料が納付されなかったため、請求の範囲3に記載された発明、並びに、請求の範囲1、2、59-63、65及び66に記載された発明のうちアクチノバチルス・アクチノマイセテムコミタンスに関する発明についてのみ国際調査報告を作成した。